

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

(JOURNAL DE MICROBIOLOGIE)

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

ET PUBLIÉES

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR A LA SORBONNE

DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR

Assisté d'un Comité de rédaction composé de

MM. D<sup>r</sup> CALMETTE (A.), directeur de l'Institut Pasteur de Lille;

CHAMBERLAND, chef de service à l'Institut Pasteur;

D<sup>r</sup> GRANCHER, professeur à la Faculté de médecine;

METCHNIKOFF, chef de service à l'Institut Pasteur;

NOCARD, professeur à l'École vétérinaire d'Alfort;

D<sup>r</sup> ROUX, sous-directeur de l'Institut Pasteur;

D<sup>r</sup> VAILLARD, professeur au Val-de-Grâce

TOME QUATORZIÈME

1900

AVEC SEPT PLANCHES

PARIS

MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE  
LABORATOIRE  
de PATHOLOGIE COMPARÉE

QR  
1  
A475  
V.14  
1900.  
PER



# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

## RECHERCHES SUR L'INFLUENCE DE L'ORGANISME SUR LES TOXINES

PAR EL. METCHNIKOFF.

### SUR LA SPERMOTOXINE ET L'ANTISPERMOTOXINE QUATRIÈME MÉMOIRE

#### I

Ce mémoire est une contribution à l'étude du problème de l'origine des antitoxines. Depuis plusieurs années on s'efforce de trouver l'endroit où se produisent les antitoxines dans l'organisme. L'opinion la plus répandue considère que les organes, atteints par la toxine, sont eux-mêmes les foyers où se développent les antitoxines, qui de là passent dans le liquide sanguin. Cette théorie a été surtout développée par M. Ehrlich <sup>1</sup> et acceptée par beaucoup d'autres savants, parmi lesquels je citerai MM. Behring <sup>2</sup>, Knorr <sup>3</sup>, Wassermann <sup>4</sup> et Weigert <sup>5</sup>. Ceci ne présente rien d'étonnant, vu que l'hypothèse en question semble *a priori* très vraisemblable. Mais, lorsque nous avons essayé de la vérifier pour le tétanos <sup>6</sup>, les faits recueillis ont plaidé plutôt contre la thèse, d'après laquelle l'antitétanine prendrait naissance dans les centres nerveux. Les expériences <sup>7</sup> de MM. Roux

1. *Klinisches Jahrbuch*, t. VI, 1897.

2. *Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten*, I, 1899.

3. *Münchener medicin. Wochenschrift*, n<sup>os</sup> 11 et 12, 1898.

4. *Berliner klinische Wochenschr.*, n<sup>o</sup> 1, 1898.

5. *Ergebnisse der allgemeinen Pathologie*, année IV, 1899, p. 407. M. Weigert, dans sa critique de nos travaux, me reproche de m'être servi de centres nerveux d'animaux immunisés contre la toxine tétanique à une époque beaucoup trop tardive. Mon savant contradicteur a sans doute oublié que, dans un travail antérieur (ces *Annales*, 1897, p. 808), j'avais déjà mentionné que, même au début de la période antitoxique chez la poule, le pouvoir antitétanique ne se manifeste point dans les organes (les centres nerveux entre autres).

6. Ces *Annales*, 1898, p. 81.

7. *Ibid.*, 1898, avril.

et Borrel sur le tétanos cérébral ont apporté un argument très important contre l'origine nerveuse de l'antitoxine tétanique. Elles ont démontré que les lapins activement immunisés contre le tétanos, et qui renferment dans leur sang une quantité notable d'antitoxine, inoculés dans le cerveau, prennent le tétanos cérébral aussi bien que les témoins non vaccinés. Ce fait a été confirmé par M. Behring.

Comme il est pratiquement impossible de résoudre le problème d'une façon définitive sur des animaux, traités par la toxine tétanique ou par n'importe quel autre poison microbien, il a fallu chercher une autre voie. Nous nous sommes adressé à ces poisons artificiels qu'on obtient chez des animaux auxquels on injecte du sang ou des tissus, provenant d'autres espèces.

MM. Belfanti et Carbone <sup>1</sup> ont remarqué les premiers que le sang des chevaux, traités avec du sang de lapin, acquiert après quelque temps une propriété toxique vis-à-vis des lapins. M. J. Bordet <sup>2</sup> a obtenu aussi un sang toxique pour le lapin, en injectant à ce rongeur du sérum sanguin de cobayes préalablement traités avec du sang de lapin. Il a établi ensuite que ce pouvoir toxique réside dans la propriété acquise, par le sérum de ces cobayes, de dissoudre les globules rouges de lapin et de leur enlever leur hémoglobine. Ces faits ont été confirmés et établis en règle générale non seulement pour les hématies, mais aussi pour d'autres éléments cellulaires, comme les spermatozoïdes (Landsteiner), l'épithélium vibratile (V. Dungern) et les leucocytes.

Parmi ces poisons artificiels, agissant sur diverses catégories de cellules, il y en a qui touchent aux éléments indispensables pour la vie (comme les hématies), tandis que d'autres n'empoisonnent que des cellules dont l'organisme peut se dispenser, sans pour cela cesser de fonctionner d'une façon satisfaisante. Tel est le cas des spermatozoïdes.

Tandis que d'un côté il est facile d'obtenir des toxines artificielles contre divers éléments cellulaires, on peut non moins facilement, de l'autre côté, préparer des antitoxines agissant contre ces poisons. M. J. Bordet <sup>3</sup> a démontré que les animaux dont les globules rouges sont dissous par le sérum du sang d'autres espèces produisent une antitoxine qui empêche cette

1. *Giorn. d. R. Accad. di med. di Torino*, 1898, n° 8.

2. Ces *Annales*, octobre 1898.

3. Ces *Annales*, 1899, avril.

action dissolvante. MM. Ehrlich et Morgenroth<sup>1</sup>, dans leur mémoire si important sur les hémolysines, ont confirmé ce fait qui se rattache à la présence d'une antitoxine chez les animaux traités par le sérum d'anguille, et découverte par Camus et Gley, et Kossel.

A la suite des résultats que je viens de résumer brièvement, j'ai conçu l'expérience suivante, dans le but d'éclaircir le problème de l'origine de l'antitoxine. Je me suis proposé d'abord de préparer une toxine artificielle contre les spermatozoïdes d'une espèce animale, et ensuite, en traitant cette espèce avec du sérum toxique, de tâcher d'obtenir une antitoxine correspondante. Comme les organes sexuels mâles peuvent être facilement enlevés sans grand préjudice pour l'organisme, je me suis demandé si les animaux châtrés sont capables de produire l'antitoxine contre le poison des spermatozoïdes, au même titre que les mâles entiers. Les lignes qui suivront doivent présenter le récit de mes recherches à ce sujet.

## II

### SPERMOTOXINE

Pour mes expériences, je me servais de testicules et d'épididymes de lapins, que j'injectais dans le tissu sous-cutané de cobayes, après les avoir finement coupés avec des ciseaux, macérés dans de l'eau physiologique et passés à travers un tamis métallique. Les produits de deux ou quatre testicules suffisent pour que le sérum du sang des cobayes traités devienne toxique pour les spermatozoïdes du lapin. Le sérum de cobaye normal ne manifeste un pouvoir nuisible vis-à-vis de ces spermatozoïdes qu'à des doses beaucoup plus fortes que le sérum des cobayes traités.

On obtient donc facilement une spermotoxine artificielle qui immobilise les spermatozoïdes de lapin au bout de peu de minutes<sup>1</sup>. Lorsque cette immobilisation se fait très vite, les spermatozoïdes s'arrêtent sans s'être réunis en amas. Lorsque l'action nuisible de la spermotoxine est moins rapide, les spermatozoïdes se réunissent en petits amas étoilés, dont les rayons

1. *Berliner klinische Wochenschr.*, 1899, n° 22, p. 483.

2. Mes expériences dans des gouttes suspendues ont été exécutées au laboratoire à la température de 44°-16°.

sont représentés par les queues. Je n'ai jamais observé, même avec les sérums les plus spermotoxiques que j'aie en ma possession, de dissolution totale ou partielle des spermatozoïdes. Tout au plus si j'apercevais quelquefois la formation de petits granules sur le parcours de leurs queues.

La spermotoxine artificielle chez les cobayes traités est très spécifique. Le sérum de ces animaux agit un peu sur les hématies de lapin, en les dissolvant à un certain degré. Mais cette action doit être attribuée aux injections d'un peu de sang qui se trouve toujours mélangé à la suspension de testicules. Il doit se former dans ces conditions une certaine quantité d'hématolysine, substance différente de la spermotoxine. Je conclus à cette différence après avoir vu que des sérums de cobayes, traités avec du sang de lapin, et très hémolytiques, ne gênent en rien les mouvements des spermatozoïdes de lapin.

Les cellules de la glande testiculaire subissent une dissolution rapide dans les sérums spermotoxiques de cobayes, mais comme le même phénomène s'observe également sous l'influence du sérum de cobaye normal, on n'a pas le droit de conclure à une action particulière quelconque. D'un autre côté les cellules du foie, de la rate, du rein et des ganglions lymphatiques se conservent dans les sérums spermotoxiques aussi longtemps et aussi bien que dans le sérum de cobaye normal.

Il y a donc une action élective de la spermotoxine sur les spermatozoïdes, les autres éléments cellulaires ne présentant rien de particulier sous l'influence de ce poison artificiel. La spécificité de celui-ci peut être encore démontrée par une autre série de faits. Les spermatozoïdes d'autres espèces, de la souris, du rat, de l'homme et du cobaye même sont tout aussi peu gênés par le sérum spermotoxique du cobaye traité avec des organes mâles de lapin, que par le sérum de cobaye normal.

D'un autre côté les sérums, agissant contre les cellules de lapin, autres que les spermatozoïdes, sont dépourvus de toxicité pour ceux-ci. J'ai déjà cité le cas du sérum hémolytique. Des échantillons qui dissolvent les hématies de lapin en forte proportion et très rapidement, n'empêchent pas plus les mouvements de leurs spermatozoïdes que le sérum de cobayes neufs. Le même fait a pu être constaté pour le sérum antileucocytaire et le sérum des cobayes traités avec la muqueuse vibratile des

lapins. Les cils vibratiles de la trachée sont presque instantanément immobilisés par le sérum neuf de cobaye et même de lapin; ils subissent le même sort dans le sérum de cobayes ayant reçu à plusieurs reprises des injections sous-cutanées de la muqueuse trachéale. Ce sérum acquiert un pouvoir hémolytique, développé à la suite de l'injection d'une certaine quantité de sang, mélangé à l'épithélium vibratile, mais il reste tout aussi inactif vis-à-vis des spermatozoïdes de lapins, que l'est le sérum de cobaye neuf.

La spermotoxine, dont nous nous sommes servi dans nos expériences, est la substance active du sérum de cobayes, traités avec les organes mâles de lapins, et qui ne manifeste son influence nuisible que sur les spermatozoïdes de cette dernière espèce.

### III

#### ANTISPERMOTOXINE

Comme le sérum spermotoxique de cobayes ne touche qu'aux spermatozoïdes du lapin, et en faible degré seulement aux hématies de ce rongeur, il n'est point étonnant que ses injections soient bien supportées par les lapins. Dans toutes mes expériences j'en introduisais à la fois de 2,5 c. c. à 7 c. c. dans le tissu sous-cutané. Répétées à trois ou quatre reprises dans l'espace de 5 à 19 jours, ces injections provoquaient un changement considérable dans les propriétés du sérum sanguin.

Le sérum du sang de lapins normaux, ajouté aux spermatozoïdes de lapins, produit une réunion de ces éléments en petits amas qui conservent cependant leur mobilité pendant un long espace de temps (de 24 à 48 heures). Mais si on ajoute de ce sérum en forte proportion (p. ex. 100 : 1), on constate alors, en dehors de la formation des amas, qu'au bout de quelques heures (3-4), les mouvements des spermatozoïdes se ralentissent, et qu'un certain nombre d'entre eux s'immobilisent complètement.

Sur un assez grand nombre de lapins normaux, étudiés sous ce rapport, je n'ai rencontré qu'une seule exception, où le sérum sanguin manifestait une forte action toxique sur les spermatozoïdes de lapin. Même en proportion de 3 : 1, ces élé-

ments s'immobilisaient presque instantanément, sans s'être réunis en amas.

Chez aucun de mes lapins normaux le sérum du sang n'a jamais présenté de pouvoir antitoxique vis-à-vis de la spermotoxine de cobaye. Le mélange de sérum de cobayes, traités avec des testicules de lapin, et de sérum de lapin normal, n'empêchait jamais l'immobilisation des spermatozoïdes surajoutés.

Au contraire, le sérum de lapins, qui avaient reçu à plusieurs reprises du sérum spermotoxique de cobaye, manifestait un pouvoir antitoxique des plus nets. Il suffisait, afin de le démontrer, de préparer une goutte suspendue, composée de 2 à 8 volumes de sérum de lapin traité, d'un volume de sérum spermotoxique, de 0,1 à 1 volume de sperme fraîchement recueilli sur un gros lapin. Les spermatozoïdes se réunissaient toujours en amas et conservaient une grande mobilité pendant des heures jusqu'à 24 heures et plus. Dans des gouttes témoins, où le sérum de lapins traités était remplacé par la même quantité de sérum de lapin neuf ou dans des gouttes préparées seulement avec du sérum spermotoxique et du sperme, les spermatozoïdes cessaient leurs mouvements déjà au bout de peu de minutes. Ce résultat était toujours constant et se présentait de la façon la plus précise : le sérum sanguin de lapins, injectés en trois ou quatre fois avec 14-15 c. c. de sérum spermotoxique de cobaye, acquiert une propriété antitoxique incontestable.

Lorsqu'au lieu de se servir de lapins mâles entiers, on opère avec des mâles châtrés, le résultat reste le même. La castration a été faite de deux façons : on enlève tous les organes mâles internes (sauf la prostate), ou bien on laisse la vésicule séminale dans le corps, et on élimine seulement les deux testicules avec les épидидymes et les canaux déférents jusqu'au-dessus de la vésicule séminale. Comme cette dernière, dans tous les cas, au moins pendant la saison où j'exécutais mon travail (octobre-janvier), était remplie par un liquide transparent, ne contenant que des rares spermatozoïdes isolés, son abandon dans le corps du lapin ne constituait aucune objection contre l'exécution correcte de l'expérience. D'un autre côté, les lapins, auxquels on enlevait la vésicule séminale, se rétablissaient beaucoup plus lentement, et quelquefois même présentaient de la suppuration à l'endroit opéré.

Les épидidymes renfermaient toujours une très grande quantité de spermatozoïdes mûrs, doués d'une grande mobilité.

Les lapins châtrés, c'est-à-dire privés des éléments sensibles à la spermotoxine, produisent néanmoins de l'antispermotoxine dans leur sang. Injectés en même temps que des témoins (lapins mâles non châtrés), avec les mêmes quantités de sérum spermotoxique de cobayes, ils ont manifesté un pouvoir antitoxique du sérum sanguin très développé. (V. Appendice I.) Dans une des expériences comparatives, où j'injectai le sérum spermotoxique exactement dans les mêmes conditions, à un mâle châtré et à un autre mâle entier, le sérum du dernier s'est montré un peu plus antispermotoxique que celui du lapin châtré. (V. Appendice II.) Mais, en revanche, dans une autre expérience pareille, le sérum du lapin châtré a manifesté un pouvoir antitoxique au moins deux fois plus fort que celui du témoin qui avait conservé ses organes mâles. (V. Appendice III.) Il y a ici évidemment une intervention de particularités individuelles qui empêchent de tirer des conclusions des différences de détail.

Après l'injection de quantités au fond assez faibles de sérum spermotoxique à des lapins, je n'ai jamais pu constater la présence d'antispermotoxine dans leur sang avant le douzième jour après la première injection. Quelques jours plus tard le pouvoir antitoxique atteignait son maximum, et, à peu près un mois après la dernière injection du sérum spermotoxique, l'antispermotoxine disparaissait complètement du sang de lapin. Toute cette évolution s'accomplit donc avec une grande rapidité. Quelquefois le sérum sanguin de lapin perd son pouvoir antitoxique très brusquement, de sorte que dans l'espace de deux jours on peut constater déjà une baisse formidable de l'antispermotoxine. En présence de ce fait, il est nécessaire de faire à des lapins en expérience des petites saignées assez fréquentes, sans quoi on risque d'arriver à des conclusions erronées.

Comme j'ai pu, chez un seul et même lapin châtré, établir d'abord : 1° l'absence du pouvoir antitoxique du sang avant la première injection de sérum spermotoxique et pendant les premiers jours du traitement; 2° suivre ensuite l'apparition et l'accroissement de l'antispermotoxine d'une façon très précise, et 3° finalement déterminer la disparition de cette propriété antitoxique, le doute sur le développement de l'antispermotoxine dans le

sang des lapins châtrés et traités avec le sérum spermotoxique, devient impossible.

Il faut donc bien accepter ce fait que l'antitoxine n'est point le produit de la réaction des cellules, sensibles à la toxine correspondante. Dans le cas particulier qui nous occupe, l'antispermotoxine ne provient pas des éléments mâles, mais doit être élaborée par d'autres cellules, dont la nature ne peut être pour le moment que supposée, mais non déterminée d'une façon précise.

Il est impossible d'admettre que les spermatozoïdes manquant chez le lapin châtré fussent remplacés par un autre élément sensible, par la simple raison que les autres catégories de cellules ne sont pas intoxiquées par la spermotoxine.

Comme ce ne sont point les spermatozoïdes qui sécrètent l'antispermotoxine chez le lapin, il est tout naturel que ces éléments chez des animaux, dont le sang est antitoxique, manifestent une sensibilité marquée vis-à-vis de la spermotoxine. C'est en effet ce que nous avons pu observer. Nous avons enlevé un testicule avec son épидидyme, à un mâle entier, quinze jours après une première injection de sérum spermotoxique. Les spermatozoïdes très nombreux que nous avons pu recueillir ont été rapidement immobilisés après l'addition de deux volumes de sérum spermotoxique. La sensibilité dans ce cas s'est montrée un peu plus faible que celle des spermatozoïdes, prélevés à un lapin neuf; mais cette différence peut être expliquée par la présence d'une petite quantité de sang, mélangé à du sperme. Le sérum sanguin du même lapin châtré, qui a fourni les spermatozoïdes sensibles, a exercé une action antitoxique des plus manifestes vis-à-vis des spermatozoïdes provenant du même animal, ainsi que de plusieurs lapins neufs. Cette expérience présente une certaine analogie avec celle de MM. Roux et Borrel, où ils produisent le tétanos cérébral chez un lapin activement immunisé contre la toxine tétanique et dont le sang était déjà antitoxique. Dans les deux cas l'élément sensible est touché par la toxine, malgré la présence de l'antitoxine dans le sang. Ces faits concordent bien avec le résultat général que l'antitoxine n'est pas le produit de la cellule sensible.

## IV

## CONCLUSIONS

1. Le sérum sanguin de cobayes, auxquels on injecte la macération des organes mâles de lapins, acquiert bientôt le pouvoir spermotoxique.

2. Le sérum sanguin de lapins, auxquels on injecte du sérum spermotoxique de cobayes, acquiert au bout de quelque temps le pouvoir antispermotoxique.

3. L'antispermotoxine qui se trouve dans le sérum sanguin des lapins ne peut être attribuée aux éléments mâles, car elle apparaît également dans le sang des lapins, préalablement châtrés.

## APPENDICES

## I

Action antitoxique du sérum sanguin d'un lapin mâle châtré, auquel on avait injecté en trois fois 15 c. c. de sérum spermotoxique de cobaye.

4.5 volumes de sérum de lapin châtré<sup>1</sup>.

1 vol. de sérum spermotoxique de cobaye<sup>2</sup>.

0,1 vol. de sperme de lapin neuf.

2. 4 vol. de sérum du même lapin châtré.

1 vol. du même sérum spermotoxique.

0,1 vol. de sperme de lapin neuf.

3. 3 vol. de sérum du même lapin.

1 vol. du même sérum spermotoxique.

Les spermatozoïdes se sont agglomérés en petits amas très mobiles. Trois heures après la préparation de la goutte suspendue, les mouvements des spermatozoïdes sont encore très vifs.

Les spermatozoïdes réunis en amas et très mobiles. Après 3 h. 30 m., la plupart sont encore assez mobiles; un petit nombre ont perdu leur mobilité.

Les spermatozoïdes se sont réunis en amas. Déjà au bout de cinq minutes la plupart ont cessé leurs mouvements. Quelque temps après il ne reste plus que quelques spermatozoïdes mobiles isolés.

1. Le sang a été retiré 14 jours après la dernière injection spermotoxique.

2. Ce sérum immobilise en quelques minutes les spermatozoïdes de lapin dans le rapport de 3 : 1.

0,1 vol. de sperme de lapin  
neuf.

4. 6 vol. de sérum sanguin d'un lapin mâle neuf (témoin). Les spermatozoïdes, réunis en amas, ont presque tous perdu leur mobilité au bout de 5 minutes. Bientôt après le mouvement a cessé d'une façon complète.

1 vol. de sérum spermotoxique du même cobaye que dans les mélanges précédents.

0,1 vol. de sperme de lapin.

5. 3 vol. de sérum du même lapin témoin. Au bout de 10 minutes, presque tous les spermatozoïdes, réunis en amas, se sont immobilisés.

1 vol. de sérum spermotoxique.

0,1 de sperme de lapin.

6. 10 vol. de sérum sanguin du lapin témoin. Les spermatozoïdes, réunis en amas, sont encore très mobiles après 3 h. 50 m.

0,1 vol. de sperme de lapin.

7. 6 vol. de sérum du lapin châtré. Quatre heures après la préparation du mélange, les spermatozoïdes, réunis en amas, sont très mobiles.

1 vol. de sérum spermotoxique du cobaye n° 8<sup>1</sup>.

1 vol. de sperme de lapin.

8. 6 vol. de sérum de lapin neuf (mâle). Dix minutes après la préparation du mélange, presque tous les spermatozoïdes (réunis en amas) ont perdu leurs mouvements.

1 vol. de sérum spermotoxique de cobaye n° 8.

1 vol. de sperme de lapin.

## II

Action antitoxique comparée d'un lapin châtré et d'un mâle entier.

Les deux lapins ont reçu dans l'espace de cinq jours chacun 15 c. c. de sérum spermotoxique de cobaye à trois reprises (7, 3, et 5 c. c.).

Le sang a été pris sept jours après la dernière injection.

1. 8 vol. de sérum du lapin châtré. Les spermatozoïdes, réunis en amas, ont été trouvés très mobiles après 4 heures 30 m. Même le lendemain, après 26 heures, on aperçoit encore des mouvements de certains d'entre eux.

1 vol. de sérum spermotoxique<sup>1</sup>.

1 vol. de sperme de lapin.

4. Ce sérum était plus spermotoxique que le premier, car il immobilisait en 6 minutes presque tous les spermatozoïdes en mélange de 1 : 1.

- |  |  |
|--|--|
| 2. 3 vol. de sérum de lapin châtré.        | Quatre heures et demie après la préparation du mélange, les mouvements des spermatozoïdes, réunis en amas, durent encore, quoique moins vifs qu'au début.  |
| 1 vol. de sérum spermotoxique.             |  |
| 1 vol. de sperme.                          |  |
| 3. 3 vol. de sérum du lapin châtré.        | Les spermatozoïdes se sont réunis en amas. Leur mobilité, très vive au début, se ralentit progressivement. Au bout de quatre heures il ne reste plus que quelques amas mobiles.                            |
| 1 vol. de sérum spermotoxique.             |  |
| 1 vol. de sperme.                          |  |
| 4. 8 vol. de sérum du lapin (mâle) entier. | Quatre heures et demie après la préparation du mélange, les mouvements des spermatozoïdes (réunis en amas) sont encore assez forts. Le lendemain, 26 heures après, on aperçoit encore quelques mouvements. |
| 1 vol. de sérum spermotoxique.             |  |
| 1 vol. de sperme.                          |  |
| 5. 5 vol. de sérum du mâle entier.         | Les spermatozoïdes se sont réunis en amas. Après 4 h. 1/2, les mouvements continuent quoique affaiblis. La mobilité est un peu plus accusée que dans le mélange correspondant du lapin châtré.             |
| 1 vol. de sérum spermotoxique.             |  |
| 1 vol. de sperme.                          |  |
| 6. 3 vol. de sérum du mâle entier.         | Au bout de 4 heures, les spermatozoïdes, réunis en amas, manifestent des mouvements affaiblis, mais plus prononcés que dans le mélange correspondant du lapin châtré.                                      |
| 1 vol. de sérum spermotoxique.             |  |
| 1 vol. de sperme.                          |  |
| 7. 8 vol. de sérum de lapin neuf (témoin). | Au bout de 6 minutes, presque tous les spermatozoïdes ont perdu leur mobilité.   |
| 1 vol. de sérum spermotoxique.             |  |
| 1 vol. de sperme.                          |  |

### III

Comparaison du pouvoir antispermotoxique d'un lapin châtré et d'un mâle entier. Le premier avait reçu dans l'espace de neuf jours 44,25 c. c. de sérum spermotoxique en quatre fois.

Le second, en rapport avec son poids, avait reçu 15,75 c. c. de sérum spermotoxique les mêmes jours que le précédent.

1. 5 vol. de sérum du lapin châtré, retiré du sang, prélevé avant la 1 <sup>re</sup> injection de sérum spermotoxique.	Au bout de 10 minutes, presque tous les spermatozoïdes, réunis en petits amas, sont devenus immobiles.
--	--

0,3 vol. de sérum streptococcique de cobaye.

0,1 vol. de sperme de lapin.

2. 5 vol. de sérum du lapin châtré, retiré du sang, extrait 5 jours après la dernière injection de sérum spermotoxique.	Les spermatozoïdes, réunis en petits amas, ont conservé leur mobilité pendant plusieurs heures. Cinq heures après la préparation du mélange, la grande majorité des spermatozoïdes sont encore mobiles. Deux heures plus tard, on observe encore un assez grand nombre de spermatozoïdes mobiles.
---	---

0,3 vol. de sérum spermotoxique de cobaye.

0,1 vol. de sperme de lapin.

3. 5 vol. de sérum d'un autre lapin châtré, qui n'avait pas reçu d'injections de sérum spermotoxique. Au bout de 40 minutes, presque tous les spermatozoïdes, réunis en amas, ont perdu leur mobilité.

0,3 vol. de sérum spermotoxique de cobaye.

0,1 vol. de sperme de lapin.

4. 5 vol. de sérum du lapin entier qui avait reçu 4 injections de sérum spermotoxique. Après 4 heures, on trouve quelques spermatozoïdes immobiles à la périphérie de la goutte; mais dans la partie centrale les spermatozoïdes restent mobiles.

0,3 vol. de sérum spermotoxique de cobaye.

0,1 vol. de sperme de lapin.

5. 2 vol. de sérum du lapin châtré (le sang avait été retiré 10 jours après la quatrième injection du sérum spermotoxique). Trois heures et demie après la préparation du mélange, les spermatozoïdes sont très mobiles. Même le lendemain, 26 heures après la préparation du mélange, on trouve encore beaucoup de spermatozoïdes mobiles.

0,2 vol. de sérum spermotoxique du cobaye n° 5.

0,1 vol. de sperme de lapin.

6. Même mélange 5:0,1:0,1.

7. 2 vol. de sérum du lapin entier (le sang avait été retiré 10 jours après la quatrième injection du sérum spermotoxique). Une heure après la préparation du mélange, presque tous les spermatozoïdes ont perdu leur mobilité. Il n'est resté que quelques spermatozoïdes mobiles isolés. A l'inspection du lendemain il n'y a pas un seul spermatozoïde ayant conservé sa mobilité.

0,2 vol. de sérum spermotoxique du cobaye n° 5.

0,1 vol. de sperme de lapin.

# LE CHARBON DU CHIEN

PAR H. MARTEL

---

D'une manière générale, le chien est réfractaire au charbon. Il convient de faire une exception en faveur des jeunes chiens (Colin, Straus, Peuch) dont la résistance est d'autant plus faible qu'ils sont de plus petite taille (Bardach). Il est d'ailleurs facile de les faire succomber à une infection charbonneuse à marche rapide, en leur inoculant la bactériémie dans la plèvre (Nocard) <sup>1</sup>.

La résistance que les chiens adultes opposent à la bactériémie n'est pas absolue. La bibliographie contient un certain nombre d'observations de charbon accidentel consécutif à l'usage de viandes virulentes crues (Gilbert, Cornevin, Engel, Tannenhausser, Peuch, Davis...). On arrive d'ailleurs à provoquer un charbon mortel, chez les chiens adultes, en multipliant les tentatives d'infection expérimentale et en inoculant de grandes quantités de virus (Renault, Colin, Davaine, Brauell, Bollinger, Frankel, OEmler, Hess, Straus, Malm...). En outre, en réalisant des conditions expérimentales un peu particulières, telles que l'extirpation de la rate, l'injection intraveineuse d'émulsion de charbon de bois (Bardach) <sup>2</sup>, la privation d'eau (Pernicce et Alessi) <sup>3</sup>, on augmente la réceptivité des sujets peu sensibles.

Pour ce qui est des modifications de la virulence de la bactériémie qui a passé par l'organisme du chien, des expériences du laboratoire de M. E. Roux ont montré que le virus charbonneux se trouve renforcé, pour le cobaye et le lapin, dans une mesure parfois assez grande (Malm) <sup>4</sup>. L'opinion opposée, émise par Sadowsky <sup>5</sup>, est erronée. Elle n'a d'autre base scientifique que des expériences très peu nombreuses et mal interprétées.

1. *Cours sur les maladies contagieuses*, 1891-92, p. 44.

2. Rôle de la rate dans les maladies infectieuses, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889, p. 577.

3. Cité par Nocard et Leclainche, *Maladies microbiennes des animaux*, 2<sup>e</sup> édition, 1898.

4. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, p. 520.

5. *Compte rendu des travaux spéciaux de l'Institut vétérinaire de Karakhoff*, 1889.

## I

## CHARBON DE PASSAGE CHEZ LE CHIEN

*Création d'un virus charbonneux de passage.* — Le charbon se renforçant par son passage à travers l'organisme du chien, il était tout indiqué de chercher à l'amener à un degré d'activité tel qu'il tuerait les chiens à tout coup. Malm a essayé d'atteindre ce résultat: il n'a pu réussir à préparer une bactériodie suffisamment exaltée pour faire les passages successifs de chien à chien. Les résultats très satisfaisants obtenus par Levin<sup>1</sup>, avec le charbon des oiseaux, permettaient de prévoir qu'en multipliant les recherches on obtiendrait également de bons résultats avec le le charbon des chiens. Dans cet ordre d'idées, dès 1897, nous avons commencé des recherches sur le charbon expérimental des chiens. Dans le but d'affaiblir la résistance naturelle des sujets adultes, nous avons essayé avec succès les injections sous-cutanées de phloridzine en solution alcaline, à la dose de 0<sup>gr</sup>,20 à 0<sup>gr</sup>,50, ou de pyrogallol à raison de 0<sup>gr</sup>,20 par kilogramme d'animal. Ces injections, faites 24 heures avant l'inoculation charbonneuse, facilitent l'infection, mais les passages successifs de chien à chien restent toujours difficiles à réaliser. Nous avons obtenu de meilleurs résultats, en nous adressant à l'organisme du chien atteint de rage expérimentale ou de rage des rues. Un seul passage par le chien enragé donne à la bactériodie une virulence suffisamment renforcée pour tuer les chiens adultes dans une assez forte proportion (71 0/0) et permettre les passages en série. Le chien enragé, inoculé avec 1 c. c. de bouillon charbonneux inoffensif pour le chien en bonne santé, meurt en moins de 24 heures avec pullulation de la bactériodie dans tous les organes. Dans une autre série d'expériences, faites avec une bactériodie provenant d'une vache charbonneuse, nous avons pu réaliser une série de 36 passages successifs par l'organisme du chien, avec une mortalité considérable (82 0/0). Le premier chien charbonneux de cette série, un animal adulte, avait succombé en 28 heures, à la suite de l'inoculation sous-cutanée de 1 c. c. d'une émulsion de rate de vache charbonneuse.

*Exaltation progressive de la virulence.* — Dans la plupart de nos inoculations, nous nous sommes servi de préférence des cultures en bouillon de peptone Chapoteaut, âgées de 4 à 5 jours et

1. Om mjältbrand hos höns, Stockholm, 1897.

restées à l'étuve à 33° pendant 2 ou 3 jours; nous avons remarqué que le sang et les pulpes d'organes des chiens charbonneux, malgré leur richesse en bactériidies, étaient souvent moins virulents que les cultures en bouillon ensemencé avec ces mêmes produits virulents. Ainsi que nous l'a fait remarquer M. E. Roux, il faut sans doute attribuer cette différence dans la virulence à l'existence d'une notable proportion de substances vaccinales dans le sang des animaux charbonneux.

Par les passages successifs de chien à chien, la mortalité augmente d'abord proportionnellement au nombre des passages et finit par atteindre le summum. La mortalité permet donc d'évaluer le renforcement de la virulence. Les chiffres suivants indiquent une exaltation progressive de la virulence du charbon de passage des chiens. Sur 135 chiens d'expériences, la mortalité a été de 77,9 0/0 du 1<sup>er</sup> au 10<sup>e</sup> passage, 85,5 0/0 du 11<sup>e</sup> au 20<sup>e</sup> passage, 86,6 0/0 du 21<sup>e</sup> au 30<sup>e</sup> passage, 100 0/0 du 31<sup>e</sup> au 36<sup>e</sup> passage. En réalité, l'exaltation n'a pas une marche progressive aussi régulière. C'est ce qui ressort des chiffres que voici : du 1<sup>er</sup> au 5<sup>e</sup> passage, mortalité 60,8 0/0; du 6<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup>, 95 0/0; du 11<sup>e</sup> au 15<sup>e</sup>, 77,7 0/0; du 16<sup>e</sup> au 20<sup>e</sup>, 83,3 0/0; du 21<sup>e</sup> au 25<sup>e</sup>, 81,1 0/0; du 26<sup>e</sup> au 30<sup>e</sup>, 93,9 0/0; du 30<sup>e</sup> au 36<sup>e</sup>, 100 0/0.

D'autres facteurs permettent également d'apprécier l'exaltation progressive de la virulence.

La durée de la période d'incubation, qui est de 24 à 36 heures dans la plupart des expériences faites avec le charbon des premiers passages par le chien, tombe à 10 heures, voire même 6 heures dans les 10 derniers passages (26<sup>e</sup> au 36<sup>e</sup>).

La durée de la survie est d'autant plus faible que le nombre des passages opérés est plus considérable. Tandis que la mort n'arrive qu'au bout de 4 à 6 jours dans les 30 premières expériences faites avec le charbon des premiers passages, elle survient en 24 à 30 heures dans les 50 dernières expériences de la série, c'est-à-dire dans les 14 derniers passages de chien à chien.

L'amaigrissement des sujets d'expériences est d'autant plus marqué que le nombre des passages par le chien est plus grand.

La perte diurne moyenne donnée par la formule  $a = \frac{p-p'}{np}$ , dans laquelle  $p$  représente en grammes le poids initial du chien,  $p'$  le poids au moment de la mort,  $n$  le nombre de jours de la survie

et *a* l'amaigrissement, permet de suivre, jusqu'à un certain point, la marche progressive de la virulence. Tandis qu'au commencement de la série des passages, le chiffre d'amaigrissement est de 0,020 à 0,025, il atteint 0,028 à 0,030 vers le 12<sup>e</sup> passage, 0,032 à 0,035 vers le 17<sup>e</sup> passage, et oscille entre 0,040 et 0,044 dans les derniers passages.

*Sensibilité de quelques races canines.* — Toutes les races de chiens ne sont pas également sensibles au virus charbonneux de passage. Dans une série de 23 expériences, les chiens de rue meurent dans la proportion de 44 0/0, tandis que les chiens caniches succombent dans la proportion de 64,6 0/0. Dans une seconde série de 108 expériences, la mortalité atteint 66 0/0 chez les chiens loulous, contre 86 0 0 chez les chiens caniches. En général les chiens d'appartement et de luxe sont plus sensibles que les autres.

*Influences diverses susceptibles de modifier la réceptivité.* — Le mode de pénétration du virus charbonneux de passage influe sur les résultats de l'injection. Les chiffres suivants font ressortir cette influence. La mortalité est de 68 0/0 à la suite de l'inoculation sous-cutanée, elle atteint 85,6 0/0 lorsque l'injection est faite dans la plèvre, 87,5 0/0 lorsqu'on la pratique dans le système veineux et enfin 96 0/0 à la suite de l'inoculation intramusculaire.

L'âge constitue une autre cause de modification de la réceptivité. Les chiens adultes sont les plus résistants, ils fournissent une mortalité de 80,9 0/0; les chiens jeunes (un an et au-dessous) sont plus sensibles, ils meurent dans la proportion de 85 0/0; les chiens très vieux sont également très sensibles, ils donnent une mortalité de 87,5 0/0, enfin les très jeunes chiens (un jour ou deux d'âge) meurent tous.

Malm, dans une série de 24 expériences, avait remarqué que les chiens noirs sont plus sensibles que les autres au charbon non exalté par le passage à travers l'organisme des animaux réfractaires. Les chiffres que nous relevons dans nos expériences, faites avec le charbon de passage des chiens, montrent que, chez les chiens caniches, la mortalité est de 82,8 0/0 pour les individus noirs, 100 0/0 pour les sujets fauves et les sujets blancs; que chez les chiens de rue elle atteint 82,9 0/0 pour les individus dont le pelage est noir, 91,6 pour les individus blancs, et 93,9 0/0

pour les sujets dont la robe est multicolore, et que chez les chiens loulous fauves et les chiens loulous blancs elle atteint 100 0/0. De ces faits il semble résulter que l'influence de la race prime l'influence de la couleur du pelage. Ajoutons qu'après une série de passages de la bactériémie par les chiens d'une race déterminée, de la race caniche par exemple, on éprouve toujours quelques difficultés pour transplanter le virus sur les chiens d'une autre race.

*Inoculation du virus de passage des chiens aux animaux de laboratoire.* — Malm a constaté que le passage de la bactériémie par l'organisme du chien non réfractaire renforce moins la virulence pour le cobaye et le lapin que le passage par les chiens tout à fait résistants.

De notre côté, nous avons noté que la moyenne de la survie des cobayes inoculés avec du virus de passage aux différents degrés de son exaltation est inférieure à la survie des cobayes tués par le même virus non renforcé. L'exaltation de la virulence pour le cobaye est très marquée après les premiers passages par le chien ; la mort des cobayes survient en 24 à 30 heures. Elle est moindre après une vingtaine de passages par le chien ; les cobayes succombent alors entre 36 et 40 heures.

Le pigeon est sensible au charbon de passage des chiens. Des traces de pulpe splénique riche en bactériémies, de 26<sup>e</sup> passage par le chien, tuent le pigeon en 3 jours, par inoculation dans les muscles pectoraux. Il existe de la nécrose au point d'inoculation et des bactériémies dans le sang.

A la dose de 2 gouttes inoculées sous la peau, les cultures en bouillon contenant de nombreux bacilles de 27<sup>e</sup> passage par le chien tuent les jeunes rats d'égoût en 20 à 26 heures. Le rat adulte, qui résiste à une première inoculation sous-cutanée de charbon de 27<sup>e</sup> passage, tuant le chien en 30 à 36 heures, succombe en moins de 20 heures au charbon qui a passé par l'organisme du rat jeune. Après la mort, on retrouve toujours la bactériémie dans le sang et dans les organes.

Le chat, très sensible au charbon de passage des chiens, meurt en 24 à 48 heures à la suite de l'inoculation sous-cutanée de 1/2 c. c. de virus.

1. Des statistiques que nous avons faites à la Fourrière, il résulte que les chiens caniches sont noirs dans la proportion de 82 0/0 environ.

Une chèvre contaminée par la voie digestive, au moyen de spores du charbon de 25<sup>e</sup> passage, succombe après avoir présenté des symptômes de fièvre intense. On retrouve la bactériodie dans les organes : un volumineux œdème siégeant sur une anse intestinale et dans le mésentère marque la porte d'entrée du virus.

*Résistance du virus de passage des chiens.* — Sous sa forme filamenteuse, la bactériodie de passage résiste mal aux causes de destruction. Les spores perdent leur virulence lorsqu'on les conserve pendant un mois, dans le bouillon de culture, mis en tubes scellés et placés à l'abri de la lumière et à la température du laboratoire. Après deux mois de conservation, dans les mêmes conditions que précédemment, le sang charbonneux prélevé dans le cœur d'un chien qui vient de succomber peut encore donner des cultures virulentes pour le chien. Dans un cas où la conservation avait duré six mois, nous avons constaté que du sang charbonneux, riche en bactéridies sporulées, avait encore la propriété de féconder les milieux de culture, mais que ces cultures étaient dépourvues de virulence pour les chiens. Au point de vue de la résistance à la chaleur, le virus charbonneux de passage ne diffère pas du virus non exalté.

## II

### MORPHOLOGIE ET BIOLOGIE GÉNÉRALE DE LA BACTÉRIDIE DE PASSAGE DES CHIENS

La bactériodie, examinée dans le sang et dans les organes du chien qui a succombé au charbon de passage, a la forme d'un bâtonnet d'autant plus court et plus trapu que les passages de chien à chien ont été plus nombreux. Elle pousse bien sur les différents milieux de culture à 30-33°. Cultivée à 25°, la vitalité est toujours très grande, mais la virulence est amoindrie.

La bactériodie des premiers passages par le chien pousse bien dans les bouillons de viande et dans les solutions de peptone Chapoteaut. Elle donne des formes allongées qui se réunissent en amas floconneux caractéristiques. La bactériodie de 11<sup>e</sup> passage peuple rapidement les milieux liquides, mais les filaments qui naissent sont fragiles, et les segments de la bactériodie ont une tendance à se séparer, de sorte que l'aspect floconneux des cul-

tures tend à disparaître. La bactériodie des 13<sup>e</sup>-36<sup>e</sup> passages trouble les milieux liquides en 3 à 5 heures à 33°, et les cultures troubles ne s'éclaircissent qu'au bout de 6 à 8 jours. La forme filamenteuse a disparu, la bactériodie conserve la forme d'un bâtonnet court, de longueur un peu variable. Les bouillons de viande riche en glycogène (viande de cheval, viande de fœtus) perdent leur glycogène en quelques jours lorsqu'on les ensemente avec la bactériodie de passage. En 2 ou 3 jours, l'opalescence normale des bouillons fait place à une limpidité qui s'accroît de plus en plus, et la solution iodo-iodurée ne donne plus la réaction rouge violacée du glycogène <sup>1</sup>.

La bactériodie de passage pousse bien sur la gélatine, qu'elle liquéfie lentement. Elle donne, sur gélose inclinée, des colonies dont l'aspect n'offre rien de particulier. Il est à remarquer que, sur gélose, la forme allongée est prédominante. Les bacilles courts retirés d'une culture trouble en milieu nutritif liquide, reportés sur gélose, donnent des amas de filaments bactériodiens enchevêtrés. Les cultures sur pomme de terre n'offrent aucune particularité digne d'être signalée. Le lait où pousse la bactériodie de passage de chien se coagule, et le coagulum se dissout au bout de 8 à 10 jours.

La bactériodie de passage donne des spores en présence de l'oxygène libre et à des températures comprises entre 16 et 42°. Les spores sont facilement colorables par la thionine phéniquée après plusieurs mordancages par la fuchsine anilinée.

### III

#### LE CHARBON DE PASSAGE DES CHIENS AU POINT DE VUE DE LA SYMPTOMATOLOGIE ET DE L'ANATOMIE PATHOLOGIQUE

La maladie expérimentale débute par des frissons, une soit

1. Les cultures récentes faites en partant de la bactériodie de passage et en milieux nutritifs liquides retardent la cristallisation en modifiant la forme cristalline de l'alun. La face (*p*) du cube vient s'ajouter aux faces (*a'*) très réduites de l'octaèdre régulier et aux faces (*b'*) un peu plus développées du dodécaèdre rhomboïdal. Les bouillons non peuplés ne possèdent pas cette propriété. D'après les travaux de Lewalle et de Pasteur sur la cicatrization des cristaux, il est permis de conclure que toute cause qui modifie le rapport des vitesses d'accroissement des cristaux suivant deux directions influe sur le choix des formes simples appelées à concourir à la délimitation du cristal (De Lapparent). L'introduction de matières étrangères solubles dans les eaux mères agit dans ce sens. De nouvelles recherches permettront peut-être de savoir à quelle substance soluble des cultures (ammoniaque, amine, acide...) il convient d'attribuer cette influence modificatrice de la cristallisation.

intense et un arrêt de la sécrétion des glandes cutanées du bout du nez. Au point d'inoculation apparaît un œdème sensible, d'autant moins volumineux qu'il est produit par une bactériémie ayant subi un plus grand nombre de passages par l'organisme du chien.

Pendant le cours de la maladie, le chien reste assoupi, sa force musculaire est amoindrie au point que les sujets les plus méchants n'opposent plus qu'une très faible résistance physique pendant les manipulations. Au cours de la période fébrile, la température peut atteindre 40°,5 et 41°, le pouls devient fréquent, la respiration difficile et la démarche vacillante.

Si la maladie dure 5 à 6 jours, il s'établit une diarrhée abondante, sanguinolente et inodore. Ce symptôme fait défaut quand la mort survient 24 à 30 heures après l'inoculation. L'urine émise est toujours abondante, quelquefois albumineuse et rarement sanglante.

L'amaigrissement des chiens inoculés du charbon de passage est toujours considérable.

Lorsque l'affection expérimentale dure 5 à 6 jours, la courbe thermique présente souvent 2 ou 3 ascensions qui sont l'indice de poussées fébriles successives. Chez les chiens qui résistent, outre qu'il existe de semblables variations thermiques pendant la période fébrile, il n'est pas rare d'observer, au moment où les sujets paraissent rétablis, de nouvelles ascensions brusques de la température ayant pour cause l'action d'un froid intense ou l'ingestion de grandes quantités de boisson. Les chiens qui succombent au charbon des 25 premiers passages présentent presque tous un abaissement considérable de la température vers les derniers moments de la vie. Leur température rectale tombe à 30°, 28° et même 26°. Les chiens inoculés avec la bactériémie des derniers passages (26<sup>e</sup> au 36<sup>e</sup>) ne présentent jamais d'hypothermie au moment de la mort. Leur température n'est pas inférieure à 38°,5.

Les lésions relevées à l'autopsie sont toujours hémorragiques. Les veines sous-cutanées sont gorgées de sang. Au point d'inoculation le tissu conjonctif est œdématié, l'œdème est rouge vers le centre et blanc à la périphérie, et les plans musculaires du voisinage sont décollés par des infiltrations abondantes. Le tissu musculaire est ferme et coloré en brun. Les ganglions

lymphatiques de la région inoculée sont infiltrés, succulents et hémorragiques.

On constate parfois des œdèmes à distance, en différents points du corps. Ces masses œdémateuses forment une gelée blanche légèrement hémorragique dans les parties profondes avoisinant les muscles de la région.

La muqueuse digestive au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle présente souvent, sur de larges surfaces, d'importantes hémorragies qui transforment le contenu intestinal et stomacal en une véritable boue sanguine. Le foie est friable, volumineux et de couleur foncée. La rate est ferme, son volume est rarement augmenté. Elle est parfois le siège de bosselures qui rappellent par leur forme et leur friabilité les bosselures que l'on observe quelquefois dans certains cas de rage. Les reins sont noirâtres, congestionnés, mais très rarement hémorragiques. Le sang est toujours poisseux, incoagulé ou mal coagulé.

On retrouve toujours la bactéridie dans les lésions. Elle est quelquefois en très faible quantité, mais dans la majorité des cas, elle se présente en amas considérables obstruant les capillaires. On réalise de belles préparations en colorant, par le Gram-Nicollé, les bactéridies qui obstruent les vaisseaux capillaires des villosités intestinales, du mésentère, de l'épiploon et du médiastin. Le médiastin inférieur convient de préférence parce qu'il présente peu de dépôts adipeux, même chez les chiens très gras. Les globules rouges du sang sont déformés, visqueux et agglutinés, les globules blancs polynucléaires existent en grand nombre dans le sang à côté des bactéridies.

La réaction phagocytaire est toujours très nette chez les chiens peu sensibles et chez les sujets qui ont reçu de fortes doses de sang virulent en inoculation sous-cutanée. Elle se traduit par l'englobement des bactéridies et par l'abondance des leucocytes au point d'inoculation. La réaction est faible lorsque l'infection charbonneuse évolue rapidement avec terminaison mortelle.

#### IV

##### CONCLUSIONS

— La phloridzine et le pyrogallol diminuent la résistance naturelle que le chien adulte oppose à l'infection charbonneuse expérimentale.

— L'organisme affaibli du chien enragé est très sensible à la bactériidie charbonneuse.

— Les chiens adultes peuvent succomber à l'inoculation sous-cutanée de virus charbonneux ayant passé par le bœuf.

— Après un seul passage par l'organisme du chien adulte enragé, la bactériidie se renforce suffisamment pour permettre les passages successifs de chien à chien. En passant par l'organisme du chien adulte normal, le virus charbonneux d'origine bovine exalte sa virulence et peut tuer les chiens dans des proportions assez considérables. Les passages successifs de chien à chien deviennent possibles, sinon toujours faciles, et procurent au bout de 30 à 36 passages une bactériidie donnant à tout coup la mort aux chiens de diverses races et de toutes tailles.

— La bactériidie renforcée par de nombreux passages à travers l'organisme du chien a subi des variations morphologiques ; elle est devenue plus courte, plus trapue, et ne donne plus de filaments allongés dans les milieux nutritifs liquides.

En terminant, nous nous faisons un devoir d'adresser nos chaleureux remerciements à nos maîtres, MM. Nocard et Roux, pour les excellents conseils et les précieuses indications qu'ils nous ont prodigués, et à notre chef de service, M. Duprez, pour l'extrême bienveillance qu'il nous a toujours témoignée en mettant à notre disposition de nombreux sujets d'expériences.

(*Travail du Laboratoire de la Fourrière.*)

## RÉSUMÉ DE QUELQUES OBSERVATIONS

OBS. I. — Exp. n° 3. Chienne caniche, noire, 3 ans, 10kg,4, inoculée sous la peau le 1<sup>er</sup> décembre 1897 avec 5 c. c. de culture. Culture âgée de 5 jours, obtenue en ensemençant un bouillon de bœuf avec des traces de rate charbonneuse (vache saisie aux abattoirs de Villejuif.) — Les jours suivants, œdème au point d'inoculation, fièvre :

Températures..	38 <sup>o</sup> ,3	39,1	40	39,5	38,8	38,5
Dates.....	1 <sup>er</sup> déc.	2	3	4	5	6

Le 6 décembre, l'animal paraissant se rétablir est de nouveau inoculé sous la peau avec 1 c. c. 1/2 de culture en bouillon, âgée de 4 jours. Cette culture avait été obtenue en ensemençant la rate d'un premier chien char-

bonneau, tué en 26 heures par inoculation sous-cutanée de 1 c. c. d'une émulsion de rate charbonneuse d'origine bovine. — Mort en 36 heures.

*Autopsie* : OEdème faible au point d'inoculation. — Rate ferme. — Nombreux bacilles dans le sang. — Tous les organes cultivent.

Obs. II. — Exp. n° 4. Chienne de rue, fauve, 3 ans, 10kg,9, présentant des symptômes non équivoques de rage, inoculée le 26 novembre 1897, avec 2 c. c. de bouillon charbonneux (charbon d'un mouton saisi aux Halles centrales). Inoculation sous-cutanée, à la face interne de la cuisse. Mort en 48 heures, avec léger oedème à la cuisse.

*Autopsie* : OEdème sanguinolent. — Sang incoagulé renfermant une dizaine de bactéries par champ de microscope. — Rate noire, non friable. — Tous les organesensemencés dans le bouillon donnent des cultures tuant les chiens dans la proportion de 71 0/0 et les cobayes en 30 heures.

Obs. III. — Exp. n° 42. Chien mouton, noir, vieux, 12kg,34, inoculé le 11 février 1898, dans les muscles de la cuisse, avec 4 gouttes de culture de 9<sup>me</sup> passage par le chien. Culture de 3 jours et bouillon peptone. Mort en 7 jours avec hypothermie.

Tres. .	38°	39,3	38,8	38,2	39,6	39,2	40	34,9	34,3	28
Poids	42kg,34		42,00	44,60	44,60	44,20	40,75	40,55	40,25	40,25
Dates	11 fév.		12	13	14	15	16	17	18	
	9 h. 3' s.									9 h. m. 9 h. s. +

Les 15 et 16 février, vomissement et diarrhée. — Amaigrissement considérable.

*Autopsie* : OEdème volumineux. — Hémorragies dans les muscles au point d'inoculation. — Rate ferme. — Sang incoagulé pauvre en bactéries. — Cultures floconneuses en bouillon.

Obs. IV. — Exp. n° 49. Chien caniche noir, 4 ans, 17kg,26, inoculé le 24 février 1898 dans les muscles, avec 2 gouttes de culture de 11<sup>e</sup> passage. OEdème volumineux. Diarrhée sanguinolente le 1<sup>er</sup> mars, mort le 2 mars.

Températures	37°9	40	40	38,4	39	39,8	38,3
Poids. ....	17kg,25	16,80	16,30	16,15	15,37	14,75	14,50
Dates. ....	24 fév.	25	26	27	28	1 <sup>er</sup> mars	2 +

*Autopsie* : Hémorragies dans les muqueuses stomacale et intestinale. — Sang épanché dans le canal digestif. — Nombreux globules blancs polynucléaires dans le sang, Bactéries rares. — Cultures riches.

Obs. V. — Exp. n° 51, 52, 53, 54. Quatre chiens inoculés sous la peau, le 3 mars 1898, avec de faibles doses de culture en bouillon (charbon de 12<sup>me</sup> passage).

a) Chien loulou, noir, vieux, 3kg,730, inoculé avec 1 goutte de bouillon de culture. Mort en 2 jours.

*Autopsie* : Tous les organes sont riches en bacilles charbonneux. — Cultures en bouillon se troublent après un séjour de 5 à 6 heures, à 32°.

b) Chien de rue, fauve, jeune (10 à 12 mois), 4kg,200, inoculé avec des traces de culture. OEdème. Fièvre passagère. — Appétit variable ainsi que l'indiquent les augmentations du poids qui ont suivi les déjeuners des 3, 4, 5, mars (95, 150, 250, 340gr.) L'animal se rétablit. Pendant le cours de la maladie, la courbe thermique montre trois légères poussées fébriles.

Températures.	38 <sup>o</sup> ,2	39,2	37,7	39,3	38,3	39,6	38,8	38,6	38,4
Dates .....	3 mars			4			5	6	7
	7 h. m.	7 h. s.	10 h. s.	8 h. m.	12 h. m.	8 h. s.			

c) Chien de rue, jaune, 6 mois, 3<sup>kg</sup>, 8, inoculé avec 3 gouttes de culture.

Fièvre intense. Quatre ascensions de la courbe thermique. Mort en 5 jours.

Tres..	38 <sup>o</sup> ,4	44,2	38,2	40,4	38,5	40,8	38,5	39,7	38,6	35,4	28,5	26
Dates	3 mars.			4			5		6	7		
	7 h. s.	5 h. s.	10 h. s.	10 h. m.	3 h. s.	8 h. s.	12 h. m.	8 h. s.	7 h. m.	7 h. m.	3 h. s.	10 h. s. †

*Autopsie*: Hémorragies intestinales. — Sang incoagulé. — Bacilles nombreux dans le sang. — Rate ferme et de volume normal. — Cultures et bouillon troubles après quelques heures de séjour à l'étuve à 33<sup>o</sup>.

d) Chien griffon, fauve, 1 an 1/2, 3<sup>kg</sup>, 975, inoculé avec 2 gouttes de culture.

Mort en 5 jours. OEdème très sensible. Trois ascensions de la courbe thermique.

Tres..	38 <sup>o</sup> ,4	40,9	39	39,9	39,4	40	38,6	39,8	38,5	34,2
Dates	3 mars		4		5			6	7	
	7 h. m.	7 h. s.	2 h. s.	8 h. s.	7 h. m.	12 h. m.	5 h. s.	8 h. m.	7 h. m.	5 h. s. min. †

*Autopsie*: OEdème faible. — Muqueuse digestive indemne de congestion. — Sang incoagulé pauvre en bactériidies. — Cultures troubles en milieu liquide.

Obs. VI. — Exp. n<sup>o</sup> 56. Chien noir, extrémités blanches, âgé d'un jour, inoculé le 4 mars 1898, 11 heures du matin, avec des traces de culture de 12<sup>e</sup> passage. Mort le lendemain.

Températures	34 <sup>o</sup>	28	24,5	23	22	18	12	11,5
Dates .....	4 mars		5					
	11 h. m.	4 h. s.	10 h. m.	11 h. m.	12 h. m.	1 h. s.	2 h. 11 s.	†

*Autopsie*: Nombreux bacilles dans le sang. — Organes congestionnés. — OEdème faible. — Cultures troubles en bouillon.

Obs. VII. — Exp. n<sup>o</sup> 80. Chien de rue, 4 ans, 3<sup>kg</sup>, 690, inoculé dans le muscle avec 2 c. c. de culture. (Bouillon charbonneux récent du 22<sup>e</sup> passage). Mort en 50 heures.

Tempres.	38 <sup>o</sup> ,5	39,4	40	40,9	40,8	40,7	39,6	39
Poids...	3 <sup>kg</sup> , 690	3,577		3,470		3,470	3,390	3,400
Dates...	21 oct.	22					23	†
	3 h. s.	9 h. m.	11 h. m.	1 h. s.	3 h. s.	5 h. s.	7 h. m.	11 h. m. 5 h. s.

*Autopsie*: Hémorragies intestinales. — Bacilles charbonneux nombreux dans le sang et dans le contenu de l'intestin. — Le cobaye inoculé avec des traces du contenu intestinal meurt du charbon en 36 heures. — Cultures troubles en milieu nutritif liquide.

Obs. VIII. — Exp. n<sup>o</sup> 97. Chienne de rue, blanche, 4 ans, 6<sup>kg</sup>, 573, en état de gestation, inoculée sous la peau avec 6 gouttes de culture de 23<sup>e</sup> passage. Mort en 2 jours 1/2. Fièvre. Vomissements verdâtres. Deux poussées fébriles très marquées.

Tempres.	37 <sup>o</sup> ,5	38,5	40,8	40,4	38,3	39,8	38,7	37,5
Poids...	6 <sup>kg</sup> , 576		6,650			6,080		5,960
Dates...	31 oct.		1 <sup>er</sup> nov.			2		
	9 h. m.	5 h. s.	8 h. m.	11 h. m.	3 h. s.	9 h. m.	1 h. s.	9 h. s. †

*Autopsie* : Sang poisseux. — OEdème abondant. — Rate ferme. — Urine albumineuse. — Nombreux globules blancs polynucléaires dans le sang de la mère, nombreux mononucléaires dans le sang des fœtus.

Obs. IX. — Exp. n° 100. Chien de berger, noir et blanc, 3 ans, 9kg,25, soumis à l'action de 2 grammes de phloridzine le 2 novembre 1898. Inoculé le 3 novembre, sous la peau, avec 1/2 c. c. de bouillon (culture de 25<sup>e</sup> passage). Le 3 novembre, l'urine du chien était riche en glucose. Mort en 30 heures.

Tempres.	38°3	39	40,2	38,8	38	38,5	39	39,7
Dates...	2 nov.	3				4		
	Midi	midi	2 h. s.	4 h. s.	6 h. s.	6 h. m.	10 h. m.	8 h. s. †

*Autopsie* : OEdème faible. — Hémorragies stomacales abondantes. — Nombreux bacilles dans le sang.

Obs. X. — Exp. n° 111. Chien mouton, noir cendré, adulte, 13 kilogrammes, inoculé dans les muscles de la cuisse avec 1/4 c. c. d'une émulsion de rate (chien charbonneux de 26<sup>e</sup> passage). Mort en 52 heures.

Températures.	38°	38,7	38,2	38,5	37,9	39
Dates.....	9 nov.		10		11	†
	m.	s.	m.	s.	m.	s.

*Autopsie* : Sang incoagulé, riche en bactériidies. — Rate noire et molle. — 3 gouttes d'une émulsion de rate tuent un pigeon en 3 jours.

Obs. XI. — Exp. n° 123. Chienne de rue, fauve, 8kg,750, inoculée sous la peau, le 19 novembre 1898, avec 5 c. c. de sang (chien charbonneux 30<sup>e</sup> passage). Mort en 48 heures.

*Autopsie* : Rate molle, très riche en bacilles. — Sang noir incoagulé. — Lait charbonneux : 5 à 10 bactériidies par champ de microscope. — Cultures troubles en milieu nutritif liquide.

Obs. XII. — Exp. n° 101. Chienne de berger, noire, 7kg,42, inoculée le 29 octobre 1898, avec 5 gouttes de culture récente (bouillon charbonneux de 23<sup>e</sup> passage). Fièvre passagère. L'animal résiste.

Tres..	33°	38,1	39,3	37,9	37,5	38,5	39,5	39,6	38,9	38,9	39
Dates.	29 oct.	30					31		1 <sup>er</sup> nov.	2	3
	11 h. m.	5 h. s.	7 h. m.	9 h. m.	11 h. m.	8 h. s.	7 h. m.	2 h. s.			9 h. m.

Le 3 novembre, l'animal ingère une grande quantité d'eau ; il est pris de tremblements, il a de la fièvre.

Températures	39°6	39,6	40	39,5
Dates.....	3 nov.			
	12 h. m.	2 h. s.	4 h. s.	6 h. s

Les jours suivants la température redevient normale. Le 7 novembre, une injection de culture charbonneuse détermine une fièvre passagère. L'animal résiste. Il est immunisé.

# RECHERCHES

SUR

## L'influence de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal

### SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MAIS

PAR M. P. MAZÉ, PRÉPARATEUR A L'INSTITUT PASTEUR.

---

#### I

L'usage rationnel des engrais chimiques permet-il au cultivateur d'avoir la haute main sur le rendement de ses récoltes ? Cette prétention est combattue par un si grand nombre de facteurs, qu'elle doit être émise avec beaucoup de réserves. Indépendamment des conditions d'humidité, de température, d'intensité lumineuse sur lesquelles on ne peut rien, notre ignorance sur la physiologie de la nutrition des végétaux entraîne un certain nombre d'aléas avec lesquels il faut aussi compter.

On sait grossièrement quels sont les éléments principaux qui interviennent dans l'alimentation de la plante ; mais on sait peu de choses des influences diverses tenant à la nature des composés dans lesquels ils sont engagés. Un même élément agit de façon différente suivant les états sous lesquels il se présente. L'azote, suivant qu'il est fourni à l'état d'ammoniaque ou d'acide nitrique, ne conduit pas au même résultat dans un sol donné.

Je me suis proposé dans ce travail de rechercher les causes encore mal connues de cette divergence.

De longues et nombreuses recherches ont montré que l'azote nitrique semble généralement le plus efficace.

MM. Lawes et Gilbert ont cultivé du blé depuis l'année 1844 jusqu'à ces dernières années, sur un même terrain, dans des parcelles qui recevaient des engrais minéraux et du sulfate d'ammonium ou du nitrate de sodium. Voici les rendements moyens obtenus à l'hectare durant cette longue série d'expériences.

Engrais fournis à l'hectare.	Poids du grain.	Poids de la paille.
—	—	—
Engrais minéraux seuls.....	kg. 1007,048	kg. 4.639
— + 48 kgr. azote (sous f. d'ammonium).	1613,224	2.813
— + 96 kgr. —	2192,568	4.223
— + 144 kgr. —	2413,88	5.076
— + 96 kgr. azote nitrique....	2426,928	5.250

M. Dehérain a obtenu des résultats analogues non seulement avec le blé, mais aussi avec la betterave, la pomme de terre, le maïs fourrage.

A quoi tient cette infériorité de l'azote ammoniacal sur l'azote nitrique? Les raisons en doivent être multiples; elles peuvent tenir au sol ou au végétal.

En ce qui concerne le sol, M. Dehérain recommande d'employer le sulfate d'ammonium dans les terres fortes, humides, et de réserver les nitrates pour les sols légers et secs.

Mais la plante ne doit pas être indifférente non plus; on ne tient pas suffisamment compte peut-être de sa qualité d'être vivant qui a ses préférences et qui semble les manifester pour l'azote nitrique. On ne s'est pas demandé si l'azote ammoniacal exerce sur elle une influence nocive à la dose où on l'emploie couramment. Cette question a son importance; elle vient tout naturellement à l'esprit et voici pourquoi: on sait que l'ammoniaque incorporée au sol soit en nature, soit à l'état de sel, se nitrifie rapidement. Il est donc possible qu'une culture qui a reçu de l'azote ammoniacal ne l'utilise que lorsqu'il est nitrifié. Si le sel ammoniacal est doué de propriétés nocives vis-à-vis de la plante, on comprend qu'il puisse paralyser son développement, moins dans les terres fortes qui en immobilisent une certaine quantité, que dans les sols légers qui en fixent beaucoup moins.

On conçoit aussi que les composés ammoniacaux, tout en étant assimilables, demandent cependant à être employés à des doses modérées, parce que la plante ne peut pas les supporter à haute dose.

Les hypothèses susceptibles d'être invoquées pour expliquer les résultats observés ne manquent pas, comme on le voit.

L'expérience décidera entre elles.

## II

## LE MAÏS ASSIMILE L'AMMONIAQUE EN NATURE

La première question à résoudre est celle de l'assimilabilité des sels ammoniacaux. Elle a déjà été résolue dans le sens de l'affirmative par M. Schlœsing. Ce savant a montré en effet que le gaz ammoniac, répandu dans une atmosphère confinée où végétaient des plants de tabac, contribuait à leur développement. Le gaz ammoniac fixé par les organes aériens avait donc été assimilé.

En est-il de même des sels ammoniacaux offerts aux organes souterrains? L'observation de M. Schlœsing ne permet pas de l'affirmer *a priori*.

M. Müntz a étudié directement la question. Pour la résoudre, il faut se mettre à l'abri des ferments nitrifiants.

Dans ce but, M. Müntz prend de la terre de jardin privée de nitrates par des lavages, et additionnée de sulfate d'ammonium; il la place dans des pots qu'il expose dans une étuve à 100°. Cette température est suffisante pour tuer les ferments nitriques.

Pour éviter la contamination des germes de l'air pendant la durée de l'expérience, il recouvre les pots de grandes cages dont quelques parois sont vitrées, tandis que les autres sont formées de toiles métalliques enduites de glycérine; celles-ci laissent diffuser l'air tout en interceptant les poussières atmosphériques.

Les graines sont débarrassées des ferments nitriques par une courte immersion dans l'eau bouillante.

De cette manière, M. Müntz a constaté que le maïs, la fève, la féverole, l'orge, le chanvre se développent à peu près normalement en utilisant les sels ammoniacaux qui leur sont offerts.

Pour vérifier si elles n'avaient pas absorbé de nitrates formés dans le cours de la végétation, on recherchait l'acide nitrique dans la terre à la fin de l'expérience. De leur absence à ce moment on concluait qu'il ne s'en était pas formé auparavant. D'autre part, des pots témoins placés dans les mêmes conditions et n'ayant pas reçu de graines avaient été stérilisés; quelques-uns étaient additionnés d'un peu de terre nitrifiante; les autres n'en recevaient pas; ceux-ci ne renfermaient pas de nitrate à la fin de l'expérience; ceux-là, au contraire, étaient devenus le siège d'une nitrification assez active.

On peut, en se montrant un peu exigeant, faire à cette expérience une objection sérieuse.

L'absence de nitrates dans les vases, à la fin de la culture, ne permet pas de conclure d'une façon rigoureuse que les ferments nitrifiants ne les avaient pas envahis. Pour donner à cette déduction toute la certitude qu'elle doit avoir, il eût fallu conserver les vases quelque temps après la récolte. L'acide nitrique se serait ainsi accumulé dans la terre, et on aurait pu le caractériser facilement. Cette précaution n'ayant pas été prise, on est en droit de se demander s'il ne s'en est pas formé, par exemple, dans le voisinage des racines, et s'il n'a pas été absorbé au fur et à mesure.

J'ai donc repris cette expérience, car il est tout à fait indispensable de bien établir l'assimilation des sels ammoniacaux pour arriver au but que je me suis proposé.

J'ai accordé la préférence aux milieux liquides ; ce choix n'est pas sans inconvénient ; un grand nombre de plantes supportent mal les solutions nutritives ; les graminées seules, parmi les plantes culturales, n'en souffrent nullement. Parmi celles-ci, j'ai pris le maïs qui se prête bien aux exigences de l'expérimentation.

J'ai eu recours aux procédés de stérilisation et de germination que j'ai déjà décrits dans ces *Annales*, février 1897. Lorsque les tiges avaient atteint 15 à 20 centimètres de longueur, je les plaçais dans des flacons à col étranglé muni d'un fort tampon de coton ; ces flacons, d'une contenance de deux et trois litres, étaient remplis d'une solution nutritive préalablement stérilisée à 120° ; ils portaient en outre une petite tubulure latérale fermée avec du coton, qui permettait d'introduire de l'eau distillée stérile, sans toucher à la fermeture principale.

A la fin de l'expérience, on peut vérifier facilement si les microbes ont pris possession des milieux de culture ; mais lorsque les tubes de géloses, de gélatines ou de bouillons,ensemencés avec une goutte de la solution nutritive, demeurent stériles, on ne peut pas en conclure que les ferments nitrifiants sont absents, puisqu'ils ne poussent pas sur ces milieux. C'est pour cela qu'après avoir retiré avec précaution les plantes des flacons, on les rebouche et on les conserve quelques semaines pour voir si l'ammoniaque ne se transforme pas en acide nitrique.

De plus, comme mon but est de comparer la valeur nutritive de l'azote ammoniacal et de l'azote nitrique, j'ai fait en même temps des cultures dans des solutions additionnées de nitrate de sodium.

Voici la composition de la solution minérale que j'ai employée:

Eau distillée.....	1000 gr.
Nitrate de sodium ou sulf. d'ammonium.	Quantités variables.
Phosphate de potassium.....	1
Carbonate de calcium.....	2
Sulfate de magnésium.....	0,2
Sulfate ferreux.....	0,1
Chlorure de manganèse.....	0,1
Chlorure de zinc.....	} traces.
Silicate de potassium.....	

Dans les solutions ammoniacales, on ajoutait en outre 0,1 pour 1,000 de chlorure de sodium.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus dans une expérience:

#### I. AZOTE NITRIQUE.

Nos d'ordre.	Nitrate de sodium p. 1000.	Durée de l'expérience.	Poids sec des plantes. mgr.	Azote pris au nitrate mgr.
—	—	—	—	—
2	1	44 j.	8.900	279,8
3	1	43	8.910	261
3	0,5	32	5.710	181,9
4	0,5	36	6.261	212,1

#### II. AZOTE AMMONIACAL.

	Sulfate d'ammonium. p. 1000.			Azote pris à l'ammoniaque. mgr.
5	1	44	6.625	232,5
6	1	39	5.135	189,3
7	0,5	47	8.640	265,6
8	0,5	30	6.370	231,54

Les solutions ammoniacales renfermaient encore de l'ammoniaque ; on les a conservées deux mois au laboratoire. Au bout de ce temps, elles donnaient la réaction de Nessler aussi nette que lorsqu'on a arrêté la végétation du maïs, tandis qu'elles ne présentaient aucune coloration au sulfate de diphénylamine ou au réactif sulfophéniqué.

L'ammoniaque a donc été absorbée en nature, ce qui est d'accord avec les résultats obtenus par M. Müntz.

L'ammoniaque est donc un aliment pour le maïs; on peut même ajouter qu'elle s'est montrée aussi efficace que l'acide nitrique. De plus, le développement de ces plantes en liquide minéral ne le cède en rien à celui qu'on observe chez la même espèce végétale lorsqu'elle pousse dans les sols les plus fertiles.

Si on examine les chiffres de la quatrième colonne, on est cependant surpris de constater que les n<sup>os</sup> 5 et 6 présentent un retard relativement énorme sur les n<sup>os</sup> 7 et 8. Les plantes nourries avec de l'azote nitrique ne présentent pas cette particularité. Chez elles, le développement est à peu près proportionnel au temps.

Il est donc permis de se demander si le sulfate d'ammonium, à la dose de 1 pour 1,000, n'exerce pas une influence nocive sur la plante. Cette idée découle non seulement de l'examen du poids sec des plantes, mais aussi de l'aspect macroscopique de leurs organes.

Les tiges et les feuilles ne trahissent aucun signe de souffrance si on les compare aux plantes qui ont reçu du nitrate de sodium; mais il n'en est pas de même des organes souterrains. Déjà à la concentration de 0,5 pour 1000 de sulfate d'ammonium, l'aspect des racines diffère très sensiblement de celui qu'elles présentent dans les solutions nitriques. A 1 pour 1,000, leur allure devient si caractéristique que l'œil le moins prévenu s'en trouve frappé.

Dans les milieux additionnés de nitrate de sodium, elles sont longues, flexibles; les racines adventives portent des ramifications aussi longues que l'axe principal; leur ensemble remplit tout le volume du flacon d'un lacin extrêmement serré.

Dans le sulfate d'ammonium, les racines adventives sont très fortes, rigides; mais elles s'allongent peu; leurs extrémités atteignent rarement le fond du flacon; les ramifications sont nombreuses, mais elles restent courtes; les plus anciennes sont les plus longues; les plus rapprochées des extrémités ressemblent à des petits tubercules; toutes sont implantées perpendiculairement à l'axe et se maintiennent horizontalement dans le liquide. Cet aspect montre d'une façon frappante que la plante tend à réduire le plus possible la surface d'absorption de son système racinaire.

Avant de tirer de ces observations toutes les conclusions

qu'elles comportent, voyons d'abord comment se conduisent les plantes lorsqu'on leur offre dans une même solution l'azote sous les deux états.

### III

#### CULTURE DU MAÏS DANS DES SOLUTIONS MINÉRALES RENFERMANT DE L'AZOTE NITRIQUE ET DE L'AZOTE AMMONIACAL

L'azote nitrique a été offert à l'état de nitrate de sodium ; l'azote ammoniacal sous forme de sulfate d'ammonium.

Les lois des échanges mutuels entre divers sels en présence n'ont pas permis à ces composés de conserver leur état primitif. C'est la présence du carbonate de calcium à 2 pour 1,000 qui règle l'équilibre chimique de la solution nutritive. La chaux précipite toutes les bases terreuses à l'état d'hydrates ou de carbonates. L'ammoniaque se retrouve aussi dans la solution à l'état de carbonate. La potasse, la soude, la chaux et la magnésie se partagent les acides sulfurique, chlorhydrique et azotique.

L'ammoniaque et l'acide nitrique étant retenus dans deux molécules différentes, on doit se demander si ces deux corps ne réagissent pas l'un sur l'autre en provoquant une déperdition d'azote.

Le carbonate d'ammonium, porté à une température de 120°, peut donner lieu à un dégagement d'ammoniaque.

Les nitrates enfin, en présence d'un composé ferreux, peuvent donner naissance à des composés de l'azote moins oxygénés et par suite plus capables de réagir sur l'ammoniaque pendant leur passage à l'autoclave.

Ces causes possibles de déperdition d'azote ne peuvent pas évidemment appauvrir beaucoup des solutions aussi étendues que celles que j'ai employées. Mais il faut élucider ce point.

La solution minérale de la page 30 a été additionnée :

1° De 2 pour 1,000 de nitrate de sodium et 1 pour 1,000 de sulfate d'ammonium ;

2° De 2 pour 1,000 de sulfate d'ammonium ;

3° De 2 pour 1,000 de nitrate de sodium et de 0,2 pour 1,000 de sulfate ferreux.

Après stérilisation à 120°, on a retrouvé dans la première solution 211<sup>mgr</sup>,8 d'azote ammoniacal sur 212<sup>mgr</sup>,12 ; l'azote

nitrique qu'elle renfermait dans 100 c. c. ramenés au bain-marie à 5 c. c., a donné 55 c. c. 5 de bioxyde d'azote; le volume de bioxyde d'azote fourni par 5 c. c. d'une solution à 5 pour 100 de nitrate de sodium étant 69 c. c. 5, on trouve par le calcul que l'azote nitrique introduit dans 100 c. c. de la solution minérale correspond à un volume de 55 c. c. 6 de bioxyde.

La deuxième solution renfermait après stérilisation 64<sup>mgr</sup>,03 d'azote ammoniacal sur 63<sup>mgr</sup>,63 d'azote initial.

La troisième enfin a donné 84 c. c. 25 de bioxyde d'azote pour 150 c. c. de solution ramenés à 5 c. c., le chiffre calculé, d'après le témoin, étant 83 c. c. 4.

Tous ces résultats montrent que des solutions minérales renfermant de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal, ou les deux à la fois, à une concentration plus forte que celles dont j'ai fait usage pour les cultures, ne s'appauvrissent pas pendant le passage à l'autoclave<sup>1</sup>.

Ceci étant établi, voici les chiffres fournis par des cultures de maïs effectuées dans un milieu renfermant de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal, sa teneur en éléments minéraux autres que les composés azotés étant la même que celle de la solution précédemment employée.

Nos	Vol. de la sol.	AZOTE FOURNI.		Rapp. initial de l'az. amm. à l'az. nit.	AZOTE RESTANT.		Rapp. final.	Poids des plantes	Durée de l'exp.
		Sulf. d'amm. p. 1000.	Nitr. de sod. p. 1000.		Amm. mgr.	Nitr. mgr.			
—	2.500 c.c.	0,5	0,5	4,293	136,4	403	4,314	4.889	30 jours.
II	1.850	0,75	1	0,965	177	489	0,963	3.932	41 jours.
III	id.	0,5	1	0,643	0	48,2	»	10.700	id.
IV	id.	0,2	1	0,257	0	24,1	»	8.532	id.

Les chiffres des colonnes 6, 7 et 8 méritent d'être signalés. Pour les plantes nos I et II, l'absorption de l'azote ammoniacal et

1. Ce point établi, on peut se proposer de faire à la fin de l'expérience le bilan de l'azote fourni aux plantes. Voici quelques analyses faites dans ce but :

Azote fourni nature.	Poids en mgr.	Poids des plantes. mgr.	Azote dans les plantes. mgr.	Azote dans le liquide nutritif.			Total de l'azote retrouvé. mgr.
				Nitrique. mgr.	Ammoniacal. mgr.	Organique. mgr.	
Nitrate de sodium.	1 <sup>er</sup> ,25	205	6.261	212,1	0	0	216,1
—	4 <sup>er</sup> ,25	205	42.068	213,8	0	0	217,5
Sulfate d'amm. . .	4 <sup>er</sup> ,25	265,15	8.418	266,9	0	4,6	275,6
Nitrate de sodium.	4 <sup>er</sup> ,25	347,4	43.978	352,5	0	0	357,8
Sulfate d'amm. . .	0 <sup>er</sup> ,5						

de l'azote nitrique a été à peu près proportionnelle à la concentration initiale, puisque les rapports 1,314 et 0,933 sont très voisins respectivement de 1,293 et 0,965. A côté de cela il est curieux de constater que l'ammoniaque a été complètement absorbée dans les n<sup>os</sup> III et IV, pendant que l'azote nitrique reste encore dans la liqueur en quantité notable.

Remarquons encore que le poids de plante élaboré dans le même temps diminue rapidement lorsque la dose d'ammoniaque à l'état de sulfate dépasse 0,5 pour 1,000. Les plantes périssent dans les solutions renfermant 1 pour 1,000 de nitrate de sodium et 1 pour 1,000 de sulfate d'ammonium.

Une deuxième série d'expériences a été faite avec des solutions nutritives dans lesquelles on faisait varier la nature des acides combinés à l'ammoniaque et des bases unies à l'acide nitrique.

Les sels ammoniacaux utilisés sont : le sulfate et le chlorure; comme nitrates on a pris les nitrates de potassium et de sodium. Ces composés ont été associés deux à deux, mais de manière seulement à obtenir des liqueurs renfermant l'azote sous les deux états.

Cela fait en tout quatre solutions renfermant :

S <sub>1</sub>	{	Sulfate d'ammonium.....	0,5 p. 1000.
		Nitrate de sodium .....	1 —
S <sub>2</sub>	{	Sulfate d'ammonium.....	0,5
		Nitrate de potassium.....	Poids équivalent à 0,5 de nitrate de sodium.
S <sub>3</sub>	{	Chlorure d'ammonium.....	Poids équivalent à 0,5 de sulfate d'ammonium.
		Nitrate de Sodium.....	0,5
S <sub>4</sub>	{	Chlorure d'ammonium.....	Poids équivalent à 0,5 de sulfate d'ammonium.
		Nitrate de potassium.....	Poids équivalent à 0,5 de nitrate de sodium.

Les solutions S<sub>3</sub> et S<sub>4</sub> renfermant du chlorure d'ammonium ont la composition suivante :

Si l'on considère que la quantité d'azote apporté par la graine oscille autour de 40 mgr., on voit que l'on retrouve à la fin de l'expérience tout l'azote introduit dans les solutions nutritives, ce qui est d'accord avec les nombreuses observations faites déjà dans ce sens.

Le procédé d'expérimentation que j'ai adopté se prêtait très bien également de la détermination du volume d'eau employé par la plante pour fabriquer 1 kgr. de poids sec. Voici les résultats obtenus avec quelques pieds de maïs pris au hasard dans plusieurs séries d'expériences.

Eau distillée .....	1000
Phosphate de potassium .....	1
Chlorure d'ammonium .....	0,5
Nitrate } sodium .....	0,5
} ou	
} potassium .....	quantité équivalente
Carbonate de calcium .....	2
Sulfate de magnésium .....	0,2
— ferreux .....	0,1
— de manganèse .....	0,1
— de zinc .....	traces
Silicate de potassium .....	

Les solutions  $S_1$  et  $S_2$  ne sont autres que la solution dont on a vu la composition à la page 30.

Voici maintenant les relations entre les quantités d'azote absorbé ou laissé dans les solutions par les plantes prises très jeunes, ainsi que l'indique leur poids.

Solutions	Rapport initial de l'azote ammoniacal de l'azote nitrique.	Rapport final.	Rapport de l'azote ammoniacal à l'azote nitrique absorbés.	Poids sec des plantes.
—	—	—	—	—
$S_1$ 1850 cc.	0,643	0,440	1,47	2850 mgr.
$S_2$ 2500	1,293	0,628	3,16	4955
$S_3$ 2500	1,293	1,084	1,81	3078
$S_4$ 2500	1,293	0,678	2,86	4733

Ces chiffres montrent que l'azote ammoniacal est l'objet d'une préférence marquée de la part de la plante. C'est un résultat qu'il faut accepter; il me paraît impossible de l'expliquer ni même de l'interpréter. On peut supposer, à la rigueur, qu'une liqueur renfermant un même nombre de molécules de carbonate d'ammonium et de nitrates alcalins et alcalino-terreux cède à la plante deux fois plus d'azote ammoniacal que d'azote nitrique, si l'absorption suit à peu près les lois de l'osmose.

Pour un même poids de sulfate d'ammonium et de nitrate de sodium entrant dans la constitution de la solution nutritive, le nombre des molécules des deux composés est dans le rapport inverse des poids moléculaires. Le rapport du nombre de molé-

	Poids des plantes. mgr.	Eau évaporée. Litres.	Pour 1 kgr. de poids sec. Litres.
1	4.889	0,612	142
2	6.370	0,805	126
3	6.261	1,012	161
4	9.248	1,235	135
5	12.880	2,350	182

Ces chiffres sont plus faibles que ceux qui ont été obtenus par d'autres expérimentateurs, cela tient à ce qu'ils ne s'étendent qu'à une phase restreinte de l'évolution de la plante.

cules de sulfate d'ammonium au nombre de molécules de nitrate de sodium dans la solution est donc  $\frac{85}{132}$ ; la molécule de sulfate renfermant deux atomes d'azote, le rapport de l'azote ammoniacal à l'azote nitrique absorbé devrait être voisin du chiffre  $\frac{82 \times 2}{132} = 1,29$ ; les rapports trouvés lui sont tous supérieurs, même dans la solution S, où il aurait dû être égal à  $\frac{85 \times 2}{132 \times 3} = 0,64$ .

C'est évidemment la composition du milieu qui intervient dans ces résultats, puisque les plantes nos I et II du tableau page 33 indiquent que, dans certains cas, c'est l'azote nitrique qui est consommé de préférence. Tout cela montre que le problème de la nutrition végétale est fort complexe, et que sa solution dépend d'un grand nombre de facteurs encore complètement inconnus.

Ce qu'il faut retenir pour le moment, c'est que l'ammoniaque n'est nullement inférieure à l'acide nitrique au point de vue des exigences alimentaires du maïs.

L'expérience suivante montre d'autre part que, pour une même quantité d'azote prise à l'état d'ammoniaque ou d'acide nitrique, le poids sec élaboré par le maïs est à peu près le même dans le même temps. Ce résultat découle déjà des chiffres consignés dans le tableau de la page 30. Mais il est utile de l'établir directement.

Pour cela j'ai pris dans une même série de plantes deux pieds de maïs, l'un végétant dans une solution minérale à 0,5 pour 1,000 de sulfate d'ammonium, l'autre dans une solution nitrique à 0,5 pour 1,000 de nitrate de sodium. On les laisse pousser jusqu'à ce que les feuilles inférieures commencent à jaunir; c'est un signe que les aliments font défaut et que la plante s'autophagie; mais cette particularité ne s'observe que longtemps après que la solution nutritive a cédé tout son azote à la plante<sup>1</sup>. Voici les résultats obtenus :

Nature de l'azote fourni.	Quantité mgr.	Poids du végétal à l'état sec.	Azote p. 100.	Poids sec élaboré pour 1 d'azote.
N° 1 ammoniaque...	265,15	16,330	1,68	61,62
N° 2 acide nitrique..	205	12,068	1,77	58,86

1. Ainsi, si l'on se reporte au tableau de la page 30, on remarque que le n° 4, qui a reçu 205 milligrammes d'azote nitrique et qui par conséquent a épuisé à peu près la liqueur nutritive, renferme 3,38 pour 100 d'azote; le n° 7 qui a reçu 265 mgr, 15 d'azote ammoniacal présente une teneur de 3,08 pour 100 d'azote. En vivant sur cette réserve, ces plantes peuvent doubler leurs poids sec à peu près. Au point de vue pratique ces résultats présentent un grand intérêt. Ils montrent

On voit que ces chiffres sont à peu près du même ordre. La légère différence qu'ils dénotent en faveur de l'ammoniaque doit être mise sur le compte de l'impossibilité de saisir le moment précis où la pénurie d'azote commence à se faire sentir. Ce résultat montre en outre que l'oxygène de l'acide nitrique ne semble pas appelé à jouer un rôle utile dans le développement du maïs.

#### IV

##### RECHERCHE DES DOSES OPTIMA DE SULFATE D'AMMONIUM ET DE NITRATE DE SODIUM A EMPLOYER

Les faits consignés dans les chapitres précédents indiquent que le maïs n'établit pas de différence entre l'azote ammoniacal et l'azote nitrique; cette conclusion n'est cependant vraie que sous certaines réserves que j'ai déjà faites dès la page 31.

Lorsque la concentration de la liqueur minérale en sulfate d'ammonium dépasse 0,5 pour 1,000, on constate un ralentissement dans le développement de la plante et une modification de l'appareil racinaire, sensible à 0,5 pour 1,000, très frappante à 1 pour 1,000 et au-dessus.

Les solutions additionnées de nitrates n'exercent pas cette influence sur le végétal; elles ne provoquent pas non plus de retard dans son développement lorsque la concentration en nitrate est inférieure à 2 pour 1,000.

C'est cette différence d'action liée aux doses d'azote employées sous l'une ou l'autre forme qu'il faut maintenant examiner.

Voyons d'abord comment se comportent les graines en voie de germination, en présence de solutions minérales de concentration convenable, ou d'eau distillée additionnée d'azote ammoniacal ou nitrique.

La solution minérale que j'ai employée est la suivante :

Eau distillée.....	1000 grammes.
Phosphate de potassium.....	1
Sulfate de potassium.....	0,5
Carbonate de calcium.....	2
Sulfate de magnésium.....	0,2
Chlorure de calcium.....	} traces
Chlorure de zinc.....	
Sulfate de fer.....	
Chlorure de manganèse.....	

que des fourrages récoltés sur divers terrains possèdent, à poids égal, une valeur

Avec cette solution on a préparé trois milieux :

- |       |                          |                                       |
|-------|--------------------------|---------------------------------------|
| N° 1. | Solution minérale seule. |                                       |
| N° 2. | — —                      | avec 1 p. 1000 de nitrate de sodium.  |
| N° 3. | — —                      | avec 1 p. 1000 de sulfate d'ammonium. |

L'eau distillée a servi à préparer trois autres milieux :

- |       |                      |                                       |
|-------|----------------------|---------------------------------------|
| N° 4. | Eau distillée seule. |                                       |
| N° 5. | — —                  | avec 1 p. 4000 de nitrate de sodium.  |
| N° 6. | — —                  | avec 1 p. 4000 de sulfate d'ammonium. |

Les essais de germination ont porté sur le haricot, le maïs, la vesce de Narbonne; ils ont été effectués dans des tubes à essai renfermant 20 c. c. de liquide; ces tubes étaient stérilisés à 120°; chacun d'eux recevait une graine également stérilisée.

Ces essais ont permis de constater que les milieux n<sup>os</sup> 1, 2, 3 et 4 sont également favorables à la germination des trois espèces de graines dont je me suis servi. Avec les milieux 5 et 6 on observait un retard sensible sur les précédents; néanmoins, les plantules ne trahissaient aucun signe apparent de souffrance.

Cette expérience montre, en somme, que les graines germent normalement dans de l'eau distillée comme dans des solutions minérales dont la concentration est, dans une certaine mesure, comparable à celle de l'eau qui circule dans les interstices du sol arable. Les résultats obtenus avec les solutions 5 et 6 semblent établir, en outre, qu'une solution minérale n'exerce d'influence retardatrice sur le développement de la plantule, qu'autant qu'elle réalise certaines conditions de composition que je n'ai pas essayé de préciser davantage.

Au point de vue pratique on peut s'en tenir à ces résultats. Les terres les plus riches ne cèdent pas à l'eau qui les imprègne autant de sels solubles qu'en renferment les solutions n<sup>os</sup> 2 et 3. La marche de la germination des graines dans le sol doit se confondre avec celle que nous avons observée dans les liquides minéraux.

Au point de vue physiologique il est intéressant d'observer la germination dans des liqueurs plus riches en azote.

On a donc préparé un volume convenable de la solution page 30, que nous appellerons *sp.*

nutritive qui peut varier du simple au triple, suivant la fertilité du sol, car toutes les plantes du tableau page 30 renferment 3 à 4 pour 100 d'azote; la teneur des plantes de la page 35 dépasse même 5 pour 100.

On l'a additionnée : 1° de 3, 4 et 5 pour 1,000 de nitrate de sodium; on a ainsi obtenu trois milieux :  $O_3$ ,  $O_4$ ,  $O_5$ ; la solution SP, additionnée d'autre part de 3, 4 et 5 pour 1,000 de sulfate d'ammonium, a fourni trois autres liqueurs :  $H_3$ ,  $H_4$ ,  $H_5$ .

Avec la solution SP employée seule et l'eau distillée prises pour termes de comparaison, cela fait en tout 8 milieux de culture. Ils ont été répartis dans des tubes de 35 centimètres de long sur 3 centimètres de diamètre, à raison de 25 c. c. par tube. On a stérilisé ceux-ci à 120°, et dans chacun d'eux on a mis à germer 1 grain de maïs. On a ainsi réparti :

Dans l'eau distillée	ED	8 grains.
Dans la solution...	SP	10
	$O_3$	10
	$O_4$	10
	$O_5$	10
	$H_3$	10
	$H_4$	10
	$H_5$	9

La germination s'est effectuée à la température de 24-25°. Le tableau suivant résume l'exposé de sa marche.

Solutions	ED	SP	$O_3$	$O_4$	$O_5$	$H_3$	$H_4$	$H_5$	Observations.
Etat des graines après 4 jours de germination.									
Graines germées.....	8	6	7	6	6	6	6	7	
— non germées ..	0	4	3	4	4	4	4	2	
Germination très bonne <sup>1</sup>	6	3	0	0	0	0	0	0	
— bonne.... <sup>2</sup>	0	0	5	0	4	1	5	0	
— médiocre. <sup>3</sup>	2	3	2	6	2	5	1	7	
Après 7 jours.									
Graines germées.....	8	7	8	7	7	7	6	7	
— non germées ..	0	3	2	3	3	3	4	2	
Germination très bonne	5	4	3	0	0	0	2	0	
— bonne....	1	1	2	6	2	4	3	0	
— médiocre.	2	2	3	1	5	3	1	7	
Longueur maximum de la tige.	17 $\frac{1}{2}$ m	18	13	12	10,5	12	15	7	
Après 12 jours.									
Graines germées.....	8	7	9	7	8	7	7	9	Les tiges ont atteint depuis longtemps le tampon de coton qui bouche le tube, de sorte qu'il est impossible d'en évaluer la longueur
— non germées ..	0	3	1	3	2	3	3	0	
Germination très bonne	6	6	5	3	2	3	4	0	
— bonne....	2	1	0	0	4	2	2	3	
— médiocre.	0	0	4	4	2	2	1	6	

La présence d'un grand excès de nitrate ou de sulfate d'ammonium n'empêche pas la germination; mais elle la retarde.

Comme, d'autre part, l'eau distillée et les solutions minérales

1. Germination très bonne. — Les tiges ont de 5 à 6  $\frac{1}{2}$ m de longueur.

2. — bonne. — Les tiges et les racines sont bien sorties.

3. — médiocre. — Evolution visible de l'embryon.

de concentration convenable, sont également propices à la germination des graines, il faut en conclure que les espèces de semences que j'ai examinées renferment les substances minérales nécessaires à la germination, ce qui n'a rien que de très naturel, et que la pratique de l'enrobage ne se justifie en aucune façon<sup>1</sup>. L'expérience montre au contraire que les substances les plus indispensables au végétal adulte retardent beaucoup la germination dès qu'elles se rencontrent à dose excessive dans le liquide ambiant.

D'une manière générale l'influence du nitrate de sodium et du sulfate d'ammonium ne se traduit pas par un changement visible dans l'aspect de la plantule; seules les extrémités des feuilles se dessèchent chez celles qui poussent dans la solution  $O_3$ . On remarque également que les racines sont beaucoup moins développées dans les solutions ammoniacales, et qu'à la concentration de 5 pour 1,000 le sulfate d'ammonium produit un effet très net sur l'évolution des plantules sans toutefois arrêter le développement de l'embryon.

Les plantes adultes se comportent d'une façon différente vis-à-vis des solutions renfermant des doses variables de sulfate d'ammonium et de nitrate de sodium.

Si l'on cultive le maïs dans le liquide minéral de la page 30, additionné de 0,5, 1 et 2 pour 1,000 de sulfate d'ammonium, on remarque que les plantes se développent très bien en présence de 0,5 pour 1.000 de ce composé, beaucoup moins bien en présence de 1 pour 1,000. Lorsque la dose atteint 2 pour 1,000, elles meurent généralement très vite; quelquefois elles évoluent un peu, forment quelques feuilles d'un vert très foncé; celles-ci possèdent un limbe étroit à parenchyme très épais; au bout de quelques jours les extrémités se dessèchent, puis la feuille tout entière meurt; le bourgeon et la tige ne tardent pas à subir le même sort.

J'ai déjà insisté sur les caractères assez frappants que présentent les racines des plantes cultivées dans les solutions ammoniacales. Si on remarque qu'à la dose de 0,5 pour 1,000, ils sont déjà assez prononcés, qu'ils s'accroissent fortement à mesure que la dose de sulfate augmente, et que celle-ci devient

1. Cette conclusion ne vise que les éléments nutritifs et non les substances antiseptiques qui peuvent protéger les graines contre l'invasion des microbes.

rapidement mortelle au delà de 1 pour 1,000, on est en droit de conclure que la réduction des racines est étroitement liée au degré de nocivité de la dose de sel ammoniacal employé. On est conduit également à admettre que la concentration la plus favorable au développement du maïs se trouve au-dessous de 0,5 pour 1,000, dans le voisinage de 0,4 pour 1,000; je n'ai pas essayé cette dose.

Les chiffres des différents tableaux que j'ai donnés page 30 sont d'accord avec cette conclusion; ils ont été fournis par l'analyse de quelques échantillons pris dans des séries de plantes dont l'observation a permis de formuler les conclusions précédentes.

Les nitrates sont mieux supportés. Employés à la dose 0,5, 1 et même 2 pour 1,000, ils fournissent, en plantes sèches, des rendements qui augmentent à peu près dans le même rapport que le temps. Au-dessus de 2 pour 1,000 les plantes poussent encore bien; j'ai fait un essai de culture en présence de 5 pour 1,000 de nitrate de sodium; il n'a pas réussi, les plantes ont péri au bout de quelques jours.

Les racines présentent une surface d'absorption incomparablement plus grande que celles des plantes qui végètent dans des solutions ammoniacales. Cette particularité ne place pas celles-ci dans un état d'infériorité bien marquée vis-à-vis de celles-là; dans les milieux liquides de volume limité, l'aliment vient en quelque sorte au-devant de la plante; mais dans la terre, c'est la plante qui doit aller au devant de l'aliment; la surface d'absorption des racines y devient un facteur important à considérer.

## V

### CONCLUSIONS

Si l'on résume maintenant les résultats acquis, on peut dire que le maïs assimile également bien l'azote nitrique et l'azote ammoniacal. Le développement des plantes suit une marche parallèle; le poids sec élaboré dans le même temps est à peu près le même, à condition que la concentration du sulfate d'ammonium ne dépasse pas 0,5 pour 1,000.

Dans les solutions minérales qui renferment l'azote sous les deux états, la plante accorde la préférence tantôt à l'azote

ammoniacal, tantôt à l'azote nitrique. Cette faculté élective semble liée à la composition des liqueurs nutritives.

Le poids maximum de plante sèche élaboré par unité de poids d'azote absorbé est à peu près le même, soit que l'on offre de l'ammoniaque à la plante ou qu'on lui donne de l'acide nitrique.

Lorsqu'on alimente le maïs avec du nitrate de sodium, le poids de plante construit augmente à peu près dans le même rapport que le temps, lorsque la concentration du liquide nutritif se maintient au-dessous de 2 pour 1,000 de nitrate.

Avec le sulfate d'ammonium il décroît rapidement à partir de 0,5 pour 1,000 ; la concentration optima se trouve à 0,4 pour 1,000 à peu près ; à 2 pour 1.000 les plantes meurent très rapidement.

Pour expliquer l'infériorité de l'ammoniaque sur l'acide nitrique, établie dans la pratique par un nombre considérable d'expériences, il ne reste donc qu'une seule observation : l'influence nocive des sels ammoniacaux à une dose supérieure à 0,5 pour 1,000 et la réduction corrélative des organes souterrains.

Il est évident que si une fumure en apparence très copieuse a pour conséquence de diminuer la surface d'absorption des racines, la plante ne disposera néanmoins que d'une quantité d'aliments nutritifs assez restreinte, puisque le volume de terre explorée diminuera dans le même rapport que la surface de l'appareil racinaire. On peut donc s'attendre à voir baisser le rendement des récoltes si l'on incorpore à la terre de trop grandes quantités de sels ammoniacaux.

Ces déductions ne sauraient cependant servir, de prime abord, à interpréter les résultats fournis par la pratique. On peut, en effet, se demander si la concentration en sulfate d'ammonium de l'eau retenue par la terre arable, peut, après une fumure, atteindre un degré tel que les plantes en doivent souffrir. Le calcul permet de se faire une idée assez juste de cette concentration. Effectuons ce calcul en nous servant des données de MM. Lawes et Gilbert, p. 27. et supposons en outre que le sulfate se répande dans une couche de terre de 20 centimètres de profondeur, ce qui est une bonne moyenne surtout si le produit est répandu à la surface du sol. Ce cube de terre retient un volume d'eau qu'il faut évaluer ; on peut arriver au résultat assez facilement en admettant que, dans le sol tassé, les parti-

cules se superposent à la façon de petites sphères en laissant entre elles un tiers de vide.

Le tiers du cube de terre considéré peut donc être rempli par l'eau; autrement dit, sur 100 litres de terre, il y a 33 litres d'eau; c'est le cas d'une terre saturée; prenons le cas d'une terre bien ressuyée; admettons qu'elle renferme 30 pour 100 d'eau en volume; nous serons plus près de la réalité. Le volume d'une masse de terre d'un hectare de surface et de 20 centimètres de profondeur est de 2.000 mètres cubes; le volume d'eau évalué à 30 pour 100 est donc de 600 mètres cubes.

Si la dose de sulfate d'ammonium introduite dans ce volume d'eau est de 226 kilogrammes (quantité correspondant à 48 kilogrammes d'azote) la concentration est représentée par 0<sup>gr</sup>,376 par litre.

Pour une dose de	96 kgr.	elle est de	0,732
—	144	—	1,128

Je dois ajouter que le pouvoir absorbant du sol immobilise une certaine fraction de cette quantité d'ammoniaque; mais il faut remarquer que les racines ne sont pas sans action sur cette ammoniaque faiblement retenue, et tout se passe à peu près comme si elle était complètement libre; il faut remarquer, d'autre part, que l'évaporation tend continuellement à augmenter la richesse de la solution, si bien que l'on peut dire que ces chiffres ne sont pas certainement supérieurs aux chiffres réels.

Ceci étant établi, il est facile de comprendre, à la suite des résultats que j'ai obtenus avec les solutions minérales, que les chiffres 0,732 et 1,128 qui expriment la concentration de l'eau d'imbibition de la terre en sulfate d'ammonium, doivent correspondre à un retard dans le développement de la plante, et à un abaissement dans le rendement des récoltes.

Pour vérifier si ces déductions sont corroborées par les résultats obtenus par MM. Lawes et Gilbert, il suffit de se reporter au tableau de la page 27. On y verra : 1<sup>o</sup> que les rendements ne varient pas dans le même rapport que les doses d'azote fournies au sol; 2<sup>o</sup> que l'augmentation de rendement est plus élevée entre les limites 0 et 48 kilogrammes d'azote qu'entre les limites 48 et 96, plus élevée entre ces dernières qu'entre les deux suivantes.

Les nitrates produisent un effet tout à fait différent.

On peut aller plus loin encore dans la voie de l'identification des résultats théoriques et pratiques. Puisque les engrais ammoniacaux demandent à être employés à dose modérée, toutes les causes qui contribuent à diluer les solutions du sol favoriseront par là même le développement des plantes. Les terres fortes retiennent plus d'eau que les sols légers ; les premières fourniront donc de meilleures récoltes que les secondes pour une même quantité de sulfate d'ammonium, répandue à l'hectare. Ces conclusions sont confirmées par les observations de M. Dehérain.

Une saison pluvieuse doit favoriser l'action des sels ammoniacaux ; une saison sèche exaltera au contraire leur influence nocive. L'expérience prouve encore qu'il en est ainsi : voici les rendements en grains obtenus à l'hectare dans des cultures de blé faites à Rothamsted en 1882, année pluvieuse, et en 1887, année très sèche.

	1882 Hectolitres	1887 Hectolitres
Nitrate et engrais minéraux...	29,34	36,30
Sels ammoniacaux — ...	31,68	26,83
Nitrates quantité double .....	32,24	39,46
Sels ammoniacaux — .....	39,23	32,92

On peut joindre à ces chiffres ceux qui ont été donnés par MM. Lawes et Gilbert pour l'année 1870, année très sèche également.

Années	Sans Engrais	Engrais minéraux + 448 kgr. Sels ammon.	Engrais minéraux + 600 kgr. nitrates,	Pluie recueillie en Avril, Mai, Juin
—	—	—	—	—
1870	725 kgr.	3625 kgr.	7000 kgr.	7 $\frac{m}{100}$ 65
Moyenne des 15 années précédentes, 1771		6527	7350	16,25

Les rendements en orge et avoine offrent les mêmes variations.

L'influence de la sécheresse ou de l'humidité sur l'action des sels ammoniacaux ne doit pas tenir seulement au degré de concentration. La marche de la nitrification intervient également et on doit en tenir compte ; l'humidité favorise la transformation de l'ammoniaque en acide nitrique. Dans les saisons pluvieuses, l'influence nocive des composés ammoniacaux s'atténue donc d'abord par leur dilution et ensuite par leur transformation en nitrates. Cette observation nous conduit à nous demander quelle est la quantité d'ammoniaque nitrifiée dans la terre arable pendant les divers mois de l'année.

M. Dehérain a effectué ces recherches dans les conditions suivantes : Il place 50 kilogrammes de terre additionnés de 12 grammes de sulfate d'ammonium dans un grand vase ; à côté un vase témoin renferme le même poids de terre, non additionné de sel ammoniacal.

Les eaux de drainage ont été recueillies à des époques différentes, et on y a dosé les nitrates. Voici les résultats obtenus :

	Eaux de drainage.		Azote nitrique recueilli.	
	Témoin. c.c.	Terre avec du sulfate. c.c.	Témoin. mgr.	Terre avec sulfate d'ammo. mgr.
6 au 24 Janvier 1890....	2900	4910	52	112
24 Janvier au 3 Février.	1840	3150	27	178
3 Février au 3 Mai.....	4960	4950	68	129
4 Mai au 31 Mai.....	3330	2680	124	153
3 Juin au 45 Juillet....	7850	6820	375	2039
	17,880	16,510	646	2,611

L'expérience avait été commencée au mois de novembre 1889; les quantités d'ammoniaque nitrifiées pendant l'hiver et le printemps sont peu abondantes, comme l'on voit; la nitrification ne devient véritablement active que vers le mois de juin; néanmoins, tout l'azote nitrique correspondant à l'ammoniaque distribuée n'a pas été retrouvé au mois de février 1891. Les sels ammoniacaux conservent donc en partie leur état primitif pendant plus d'une année dans la terre. Le sulfate répandu en automne ou au commencement du printemps à une dose supérieure à 226 kilogrammes à l'hectare exerce donc son influence retardatrice sur le développement des plantes au moins jusqu'au mois de juin. A cette époque, les céréales sont déjà bien avancées; leurs organes souterrains ont atteint à peu de chose près le maximum de surface; s'ils ont subi un retard dans leur évolution, le poids des récoltes s'en ressentira, car la maturation débutera quelques jours plus tard, et ne laissera pas à la plante le temps de combler le déficit.

En un mot, tout concorde à établir que l'infériorité des sels ammoniacaux tient à l'influence nocive qu'ils exercent sur les plantes à dose élevée; les nitrates ne produisent rien de semblable dans les limites assignées par les exigences des cultures en azote. L'ammoniaque n'en constitue pas moins un aliment azoté aussi efficace que les nitrates; mais il faut savoir l'employer.

# INSTITUT ANTIRABIQUE DE JASSY

---

## UN CAS DE PSEUDO-RAGE

CHEZ UN MALADE ATTEINT DE LA MALARIA

PAR LE D<sup>r</sup> J. LEBELL

---

Le cas qui suit est doublement intéressant, par sa rareté et par sa cause occasionnelle.

*Eftim Obreja*, âgé de 16 ans, originaire de Vaslui (Moldavie), domestique, ne présentant rien d'anormal, ni dans ses antécédents héréditaires, ni dans les siens propres, avait pourtant un sommeil agité et un peu de somnambulisme. Il avait également coutume de dormir avec le chat de la maison. Une nuit, il remarqua quelque inquiétude chez l'animal, crut apercevoir de la bave lui coulant de la gueule, et il lui sembla que sa main en avait été souillée. Le lendemain matin, le chat, jusqu'alors doux et inoffensif, devint agressif, se jeta sur les gens de la maison pour les mordre, de même que sur le patient, et, comme on le chassait, il se précipita sur les chiens et les volailles de la basse-cour. Notre sujet, effrayé, abattit le chat le jour même. Sept jours plus tard, le 26 juin, il se plaint de vertiges, de difficulté de respirer et d'avalier des liquides, plaintes dont son patron n'eut aucun souci.

Cependant les symptômes s'accroissent de plus en plus, tant et si bien que le maître fut forcé de nous amener son domestique en consultation.

Le patient, de constitution débile, a les traits tirés et manifestant des signes de frayeur; les téguments sont pâles avec coloration subictérique des conjonctives; il est agité, il accuse des vertiges, de la difficulté à avaler et à respirer. Il garde dans sa bouche l'eau qu'on lui présente sans l'avalier, et subit en même temps un spasme de déglutition; une insufflation d'air sur

le nez et sur la bouche lui donne un spasme respiratoire.

Température axillaire 39°5", pouls 124, petit et faible; la rate hypertrophique, 4 doigts sous les fausses côtes. Le patient nous dit qu'il souffre de la fièvre à dater du jour où se sont manifestés les symptômes annoncés plus haut. La fièvre se présente sous forme quotidienne vers le soir et se termine par des sueurs abondantes.

Tout d'abord le patient m'a paru présenter des symptômes rabiques pathognomiques résultant de l'infection par la bave de l'animal enragé; car le chat, d'après les symptômes présentés pendant la vie, était, selon toutes les probabilités, atteint de la rage et, le patient dormant avec lui lorsqu'il était déjà agité et qu'il bavait, a pu aisément être infecté sans même avoir été mordu, fait qui se présente, quoique rarement. Cependant voici les circonstances qui m'ont amené à exclure toute idée d'une infection rabique: la durée de l'incubation de sept jours, telle qu'elle résulte de l'anamnèse, quoique possible, se présente très rarement dans les statistiques, et encore, seulement, dans les cas de morsures très graves à la figure et à la tête; de plus la persistance de l'hydrophobie et de l'aérophobie, seize jours après leur manifestation, est un fait qui plaide d'une façon à peu près certaine contre la supposition d'une infection rabique, car la durée maximum de la rage déclarée, enregistrée jusqu'à présent par la science, n'a jamais dépassé sept jours<sup>1</sup>.

En outre, tandis que dans la rage vraie, le bruit ou l'idée de l'eau suffisent à produire le spasme de déglutition, notre patient pouvait garder l'eau dans la bouche, sans manifester le moindre mouvement spasmodique s'il ne se forçait pas d'avaler cette eau.

En second lieu, l'aérophobie de notre patient se présente également sous une forme particulière. On sait, en effet, que dans la rage une simple insufflation d'air sur la peau suffit pour déterminer le spasme respiratoire (le symptôme cutané), tandis que chez notre patient le spasme ne se manifeste que lorsque l'insufflation de l'air a lieu directement dans la bouche ou dans le nez.

En vertu de ces observations et en excluant la rage, j'ai pensé avoir affaire à une pseudo-rage à base suggestive, occasionnée

1. *Specielle Pathologie u. Therapie v. Hofr. Prof. Nothnagel, Zimmensen, II<sup>e</sup> Abth.*, Lyssa v. Prof. Dr Högyes,

peut-être par des accès fébriles chez notre malade, atteint de malaria comme je l'ai vu.

La crainte d'infection rabique qui l'a saisi lorsqu'il a eu sous les yeux le chat enragé, avec lequel il avait dormi, crainte fortifiée par les discussions auxquelles elle avait donné lieu, et par les récits des symptômes de la rage (hydro et aérophobie) qu'on lui fit, ainsi que nous l'affirme son maître, l'ont prédisposé à l'auto-suggestion. Cette suggestion a été fouettée ensuite par des accès fébriles suivis de leurs manifestations, telles que céphalalgie, agitation, insomnie, vertiges, etc.

Il ne pouvait être en aucun cas question d'un traitement antirabique, car, ou bien la rage était déclarée, et dans ce cas tout traitement est superflu, ou bien il s'agissait d'une rage suggérée, et alors un traitement antirabique était inutile.

Le traitement antimalarique et psychique employé par moi a pleinement réussi, et a justifié mon diagnostic de pseudo-rage par autosuggestion (lyssophobie), occasionnée par des accès de malaria. Le 9 août, jour de son entrée à l'Institut, j'ai administré au patient une dose de quinine et de bromure de potassium, et en même temps je lui ai fait deux injections avec de l'eau stérilisée, faites aux heures habituelles d'inoculation des autres malades de l'Institut.

Le lendemain, 10 août, le malade affirma qu'il respirait mieux et qu'il avalait l'eau encore plus facilement : état fébrile disparu, pouls moins agité, éruption d'un herpès labial. Le matin du 11 août on répète exactement le traitement ci-dessus. Nous le gardons encore trois jours en observation à l'Institut, au bout desquels nous le renvoyons complètement guéri.